



DEPARTAMENTO DE MEDICINA
Facultad de Medicina
UNIVERSIDAD DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

CONTROL DE LA GLUCEMIA Y NEFROPATÍA
EN EL PACIENTE DIABÉTICO

FRANCISCO NAVARRO-PELAYO SÁNCHEZ

Granada, 2003



DEPARTAMENTO DE MEDICINA
Facultad de Medicina
UNIVERSIDAD DE GRANADA

**D. FRANCISCO JOSE PÉREZ BLANCO. PROFESOR TITULAR DE
PATOLOGIA CLINICA MEDICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA**

CERTIFICA:

Que D. FRANCISCO NAVARRO-PELAYO SÁNCHEZ , ha realizado en el Departamento de Investigaciones Medicas " Mora Lara " y bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada " Control de la glucemia y nefropatía en el paciente diabético " que ha concluido con todo aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión correspondiente.

Granada, Junio del 2003



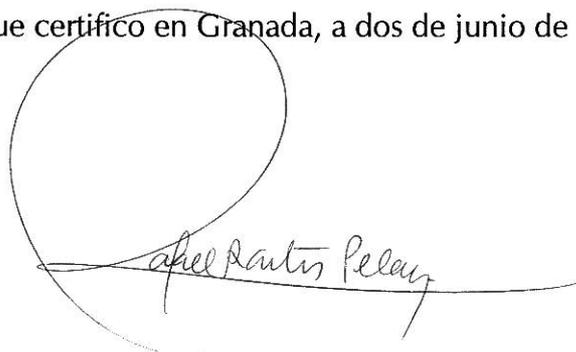
DEPARTAMENTO DE
MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Avda. de Madrid, 11
Tfnos: 958 24 35 43 - 44
Fax: 958 24 61 18
18012 GRANADA

**D. RAFAEL RODRÍGUEZ-CONTRERAS PELAYO, CATEDRÁTICO DE
MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA EN EXCEDENCIA VOLUNTARIA
Y PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y
SALUD PÚBLICA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

CERTIFICA que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio de la Comisión, D. FRANCISCO NAVARRO-PELAYO SÁNCHEZ, titulada "Control de la glucemia y nefropatía en el paciente diabético", ha sido realizada bajo mi dirección, en el Departamento de Medicina, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor, en condiciones que le hacen acreedor al título de Doctor, siempre que así lo considere la citada Comisión.

Lo que certifico en Granada, a dos de junio de dos mil tres.





DEPARTAMENTO DE MEDICINA
Facultad de Medicina
UNIVERSIDAD DE GRANADA

**D. ANTONIO RODRIGUEZ CUARTERO. PROFESOR TITULAR DE
PATOLOGIA CLINICA MEDICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA**

CERTIFICA:

Que D. FRANCISCO NAVARRO-PELAYO SÁNCHEZ , ha realizado en el Departamento de Investigaciones Medicas " Mora Lara " y bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada " Control de la glucemia y nefropatía en el paciente diabético " que ha concluido con todo aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión correspondiente.

Granada, Junio del 2003

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar y de forma muy destacada al Profesor Francisco J. Pérez Blanco, Director de esta Tesis, a quien también tanto debo con respecto a la misma; por sus valores académicos mi mayor respeto, pero sobre todo por sus valores humanos.

Mi más sincero aprecio, deseándole la mayor suerte en todo lo que con el mismo acierto siga dirigiendo, estando seguro de que en sus manos llegará a buen término.

Al Profesor Rafael Rodríguez-Contreras Pelayo, a quien su apellido me une familiarmente, pero sobre todo quiero recordar que fue el impulsor y motor de esta Tesis; fue la chispa inicial de la misma, además de director, dándome empuje, evitando que el tono del trabajo bajara con sus consejos y obligándome a mantener la forma y constancia hasta el final.

Al Profesor Antonio Rodríguez Cuartero, mi otro director, destacado investigador y mejor clínico, quien en innumerables ocasiones ha sido referencia de las dudas que el día a día nos presenta a muchos.

Todo mi respeto y admiración.

Al Profesor de la Higuera Torres-Puchol, Jefe del Servicio de Medicina Interna B, donde se integra mi labor clínica y con quien llevo compartiendo años de auténtico compañerismo.

A los Profesores Francisco Miras Parra y Francisco Javier Gómez, amigos cercanos, por su apoyo y orientación en la labor administrativa y burocrática, así como por sus valores humanos y sencillez de ambos.

A todos mis compañeros del Servicio de Medicina Interna, por compartir y sobrellevar el tiempo de años conmigo, por lo aprendido junto a ellos, tanto en la medicina como en la vida.

A mi madre, por todo el sacrificio que significa ser madre.

A Maribel, quien junto con mis hijos, representa mi mejor presente y mi familia.

A mi hija María del Mar, en quien tengo puestas tantas esperanzas como futura licenciada en Medicina, a quien deseo toda la suerte del mundo y entrego mi apoyo al completo en su formación.

Agradezco a Irene Fernández su labor informática, basada en la seriedad, responsabilidad y máxima profesionalidad, sin la cual la elaboración de esta Tesis hubiera sido mucho más difícil.

A mi padre, a quien tanto debo y al que su situación actual, por su avanzada edad, no le permite estar presente ni tal vez tener conocimiento de esta dedicatoria y de todo el cariño que representa.

PRESENTACIÓN

Desde hace más de 20 años, se realizan en el **Departamento de Investigaciones Médicas “Mora Lara”** de la Facultad de Medicina de Granada estudios sobre **Enzimología Urinaria**, en sus comienzos bajo la dirección de los profesores Mora Lara y Nuñez Carril.

Posteriormente, esta labor ha sido continuada por los profesores Rodríguez Cuartero y Pérez Blanco.

En los últimos años, se han montado nuevas técnicas y se estudian nuevas enzimas, fundamentalmente aquellos relacionados con enfermedades sistémicas con repercusión renal, tales como la Diabetes Mellitus y la Hipertensión Arterial

Fruto de esta línea, han sido numerosas Tesis Doctorales que posteriormente fueron publicadas en revistas de ámbito internacional. Este trabajo es por tanto continuación de los anteriores y queremos relacionar el grado de control de la diabetes con la afectación renal en estos enfermos.

En relación con la diabetes mellitus, se han estudiado enzimas como **Calicreina** y **N-acetil-beta-glucosaminidasa**, este último responsable de la degradación de los **Glucosaminoglicanos**, estando publicados los resultados en las revistas que se mencionan a continuación:

1. Pérez Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron* 1996; 73: 344-345.
2. Pérez Blanco FJ, Manzanares Olivares L, Domínguez Vicente JR, Moreno Terribas G, Rodríguez Cuartero A. Urinary kallikrein excretion in early diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1997; 47: 64-65.
3. Pérez Blanco FJ, Garbin Fuente I, Pérez Chica G, Moreno Terribas G, Rodríguez Cuartero A. Urinary activity of N-acetyl beta glucosaminidase and progresión of retinopathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Clin Nephrol* 1997; 48: 388-389.
4. Pérez Blanco FJ, Sabatel Hernández G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A. Urinary N-acetyl beta glucosaminidase excretion in non insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1998; 49: 132-134.

5. Pérez Blanco FJ, Muñoz Casaubón T, Miras Parra FJ, Pérez Chica G, Rodríguez Cuartero A. Urinary activity of beta glucuronidase and excretion of glucosaminoglycans in the diagnosis of diabetic nephropathy. Clin Nephrol 2000; 53: 156-158.

INTRODUCCIÓN

Nefropatía diabética

I. DEFINICIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un síndrome que se caracteriza por hiperglucemia crónica, que afecta concomitantemente al metabolismo lipídico y proteico, que propende al desarrollo de alteraciones vasculares específicas (microangiopatía) e inespecíficas (macroangiopatía) y que tiene como raíz última un déficit relativo o absoluto de insulina.

La palabra diabetes deriva del griego y significa “sifón”, una obvia referencia a la poliuria y a la polidipsia que son manifestaciones cardinales de este trastorno. Si bien los síntomas relacionados con el riñón fueron los primeros en ser reconocidos como manifestaciones de la diabetes, los efectos renales tardíos no se conocieron hasta 1936 cuando Kimmelstiel y Wilson¹ describieron formaciones medulares hialinas en los glomérulos procedentes de las autopsias de ocho pacientes diabéticos; a esta lesión se le denominó “glomeruloesclerosis nodular”. Además estos investigadores también definieron el síndrome clínico de la insuficiencia renal y proteinuria intensa asociada a hipertensión sistémica. En el curso de los años posteriores surgieron varias descripciones de otras variedades de lesiones glomerulares y se clarificó enormemente el cuadro clínico y la magnitud del espectro de estas lesiones.

Bell² describe la glomeruloesclerosis difusa, diferenciándola claramente de la nodular y señala la gran importancia de las lesiones arteriolas en la patogenia de la nefropatía de los diabéticos.

El término “microangiopatía diabética” fue propuesto por Lumbaek³ en 1954, basándose en el hallazgo común de enfermedad de los pequeños vasos tanto en la retinopatía como en la nefropatía de los diabéticos.

La introducción de la biopsia renal percutánea y la disponibilidad del microscopio electrónico han permitido un mejor conocimiento de la enfermedad; se han descrito cambios primarios en la membrana basal de los capilares y su evolución hasta la oclusión glomerular. Muchos estudios han contribuido a una mejor comprensión de la enfermedad permitiendo un aceptable manejo clínico de los pacientes; sin embargo, a pesar de los grandes avances en algunas áreas, siguen quedando lagunas en las que el desacuerdo y la confusión persisten.

El síndrome clínico se caracteriza por proteinuria persistente, hipertensión arterial y deterioro progresivo de la función renal. El patrón histológico viene representado por la glomeruloesclerosis nodular, glomeruloesclerosis difusa y la hialinosis glomerular. Pero estos hechos no ocurren de forma precisa y en un momento dado en el curso de la diabetes, son más bien la consecuencia de una serie de eventos que de forma continuada se van produciendo en el glomérulo.

Actualmente no existen dudas respecto a la coincidencia entre el inicio de la diabetes y el comienzo de la nefropatía.⁴ En los estadios iniciales se detectan alteraciones funcionales y estructurales sin repercusión clínica, posteriormente hay un periodo de transición en el que se van desarrollando las lesiones glomerulares, pudiendo aparecer microalbuminuria ocasional que después se hace persistente, acompañándose en ocasiones de hipertensión arterial y por último en la fase más tardía se establece la oclusión glomerular y aparece proteinuria persistente con hipertensión, que conduce a la insuficiencia renal crónica terminal o a la muerte por enfermedad cardiovascular.

La nefropatía diabética es una complicación muy severa de la diabetes mellitus tipo 1, tanto en su frecuencia como en sus consecuencias. En la diabetes mellitus tipo 2 su incidencia es menor, probablemente debida a la edad de los pacientes y a la mayor mortalidad por causas cardiovasculares que impiden en ocasiones el desarrollo de la nefropatía.

II. ESTUDIO DE LA PREVALENCIA

La diabetes es la enfermedad endocrina más frecuente con una incidencia del 1-2% de la población, además de una elevada prevalencia en el mundo,⁵ cuyas consecuencias son un elevado índice de complicaciones y de mortalidad,⁶ que originan un alto gasto económico,⁷ aumentan en caso de complicaciones renales u otras y crecen exponencialmente en la edad de los pacientes.⁸

En la actualidad las alteraciones crónicas de la microcirculación renal son responsables de índices muy elevados de morbilidad y de mortalidad, particularmente en pacientes que desarrollan diabetes en la infancia o en la juventud. Se estima que hasta el 50% de estos pacientes desarrollará una insuficiencia renal después de transcurridos 10 a 30 años de enfermedad.^{9,10,11,12}

La insuficiencia renal por nefropatía es causa principal de muerte en la diabetes.^{13,14,15} El estudio Steno, en Dinamarca, demostró que después de 40 años de diabetes, sólo el 10% de los que desarrollan nefropatía vivían, frente al 70% del grupo sin nefropatía.¹⁶ La mejor intervención sería prevenir el desarrollo de la propia diabetes, al menos la de tipo 2 (DM 2), que en la actualidad es la causa de la mayor parte (90%) de la diabetes,¹⁷ así como de los nuevos casos (84%) de insuficiencia renal terminal secundarios a nefropatía diabética.¹⁸

Una vez establecida, con el paso de los años habrá que actuar sobre los factores de riesgo que conducen a las complicaciones, en especial a la nefropatía diabética.¹⁹

Sin embargo la enfermedad renal y la insuficiencia renal también se asocian con la diabetes que aparece en el adulto si bien, como hemos señalado anteriormente, en este tipo de diabetes existen otras complicaciones sistémicas que predominan sobre la enfermedad renal como causas de muerte.^{20,21} La insuficiencia renal contribuye significativamente a los índices de mortalidad y morbilidad en una proporción amplia de los pacientes diabéticos.

La incidencia acumulativa de la nefropatía diabética a los 40 años de evolución en la diabetes mellitus tipo 1 es de 45 al 50%, con un pico de máxima incidencia a los 15 años.

En España, por los escasos estudios epidemiológicos disponibles^{22,23} se puede calcular que hay, como mínimo, un millón de diabéticos de los cuales 150.000 padecen diabetes tipo 1. La mitad de todos ellos presentará algún signo de afección renal a lo largo de su evolución²⁴ y alrededor de 50.000 enfermos con diabetes tipo 1 y de 20.000 con diabetes tipo 2 fallecerán a consecuencia de la nefropatía.^{25, 26}

Un reciente estudio de Esmatjes y cols.²⁷ realizado en Cataluña en diabéticos tipo 2, indica que la prevalencia de la afectación renal aumentó con la evolución de la enfermedad metabólica, siendo del 8,1% en los pacientes con menos de 9 años de evolución, del 24,7% en los que llevaban entre 10 y 19 años diagnosticados de diabetes y del 44,7% en los que eran diabéticos desde hacia más de 20 años.

Se ha comprobado que existe una relación estricta entre la duración de la diabetes mellitus tipo 1 y la presencia de nefropatía diabética.²⁸ El riesgo se inicia a los 5 años del comienzo de la enfermedad, aumenta un 2,5% anual hasta la segunda década y a

partir de entonces disminuye un 1%.^{29, 30, 31} Por tanto no sigue el patrón habitual de otras complicaciones crónicas (retinopatía).³² Esta disminución de riesgo a partir de la segunda década de la vida, sugiere que sólo un grupo de diabéticos es susceptible de lesión renal.

La nefropatía diabética constituye una complicación relativamente frecuente que, una vez instaurada (fase de nefropatía diabética establecida), es irreversible y progresa hacia la insuficiencia renal terminal (IRT), a la vez que cursa con una alta morbimortalidad cardiovascular, que ha variado poco desde 1987³³ y no se detiene tras el trasplante renal, siendo las complicaciones cardiovasculares la primera causa de muerte en pacientes transplantados.³⁴ La presencia de nefropatía diabética en pacientes con diabetes tipo 1 (DM 1) aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular 10 veces, incluyendo tanto la enfermedad coronaria como los accidentes cerebrovasculares.³⁵ Así las complicaciones a largo plazo son la causa más importante de mortalidad de los pacientes diabéticos en los países occidentales.

La nefropatía diabética se asocia con mayor frecuencia a complicaciones tardías³⁶ y mayor mortalidad por causas extrarrenales.³⁷

En EEUU, en 1992 la prevalencia de nefropatía diabética era del 40% y la incidencia del 36%. En otros países, la frecuencia de nefropatía diabética también está aumentando, siendo ya en muchos la primera causa de insuficiencia renal terminal.³⁸ En Canadá, en 1996, el número de pacientes con afectación renal, subsidiaria de tratamiento sustitutivo, ascendía a 17.807 y se calcula que subirá a 32.952 en el 2005, lo que significa un incremento del 5.8% anual. En España, la prevalencia de afectación renal global es del 22 al 26% en la diabetes tipo 1 (13-14% con microalbuminuria y 8-12% con nefropatía establecida), ascendiendo el porcentaje de nefropatía inicial al 23% en la diabetes tipo 2, pero siendo similar la prevalencia de la nefropatía establecida (10-12%).³⁹ En Madrid, en el Área Sanitaria 1 los diabéticos constituyen el 30% de los pacientes en tratamiento sustitutivo de la función renal.⁴⁰

El número de pacientes que ingresa en un programa de tratamiento sustitutivo (hemodiálisis o diálisis peritoneal), se ha incrementado en los últimos años. En EEUU la nefropatía diabética es la primera causa de insuficiencia renal crónica y de los pacientes que ingresan anualmente en un programa de diálisis del 25 al 28% son diabéticos.^{41, 42}

Según datos del último registro USRD⁴³ en 1996, unos 19.000 pacientes nuevos al año requieren tratamiento de insuficiencia renal terminal (35,2% del total) y los costes médicos directos fueron superiores a 4 billones de dólares al año.

Algunos autores como Perneger y cols.⁴⁴ indican que estas cifras son aún mayores tomando como referencia un estudio poblacional de casos y controles. Estiman en un 42% los pacientes con insuficiencia renal terminal incluidos en el año 1993 en tratamientos sustitutivos renales. De estos la mitad corresponden a diabetes mellitus tipo 1 y la otra a diabetes mellitus tipo 2.

La magnitud de esta enfermedad se pone de manifiesto en un estudio observacional, longitudinal, y prospectivo de una cohorte de 1.115 pacientes con diabetes tipo 1 a lo largo de 5 años realizado en España entre 1995 y 2000, donde se indican la prevalencia en 1995, la incidencia acumulada, la incidencia anual y la prevalencia en el 2000 para las distintas complicaciones, siendo para la nefropatía del 23,14%, el 10,03%, el 2,38% y el 30,85%, respectivamente.³⁹

En España la nefropatía diabética es la tercera causa de insuficiencia renal crónica.^{45,46} El 12% de los pacientes que iniciaron sustitución renal entre 1986-87 eran diabéticos.⁴⁷

Los registros llevados a cabo por la Sociedad Española de Nefrología en los últimos años están escasamente actualizados, por lo que los datos que existen actualmente son solo de referencia y obtenidos de los registros europeos donde el porcentaje de respuesta de los centros españoles en los formularios no alcanza el 70%, lo que hace que estos datos no sean totalmente fiables.⁴⁸

En relación con el trasplante renal, el 20% en EEUU y el 11% en Europa⁴⁹ fueron realizados en individuos diabéticos.

Respecto a la prevalencia de nefropatía diabética en la diabetes mellitus tipo 2 se dispone de menos datos epidemiológicos. La prevalencia de la nefropatía diabética continua sin grandes variaciones en lo que respecta a la diabetes tipo 1, pero está en constante aumento en la diabetes tipo 2 por distintos motivos, especialmente por factores ambientales, tales como las dietas hipercalóricas, la vida sedentaria, la obesidad, el envejecimiento de la población, la mayor supervivencia de pacientes con diabetes tipo 2 y la mayor disposición de recursos humanos y materiales que hace

más accesible el tratamiento con diálisis a pacientes con mayores factores de comorbilidad, como son los diabéticos.⁵⁰

Parece mas frecuente en determinados grupos étnicos (japoneses, pimas) en los que alcanza una prevalencia del 50% al cabo de 20 años de diabetes.^{51,52, 53}

Existen numerosos estudios sobre la historia natural de la nefropatía diabética en indios pima, comprobándose que es la causa mas importante de morbilidad y de mortalidad en esta raza⁵⁴ y que la progresión de la enfermedad no va a depender de la edad, sexo o presión arterial y sí del tiempo de duración de la proteinuria.⁵⁵

También se ha comprobado mayor incidencia de insuficiencia renal terminal en el curso de la nefropatía diabética en determinados grupos étnicos. Cowie⁵⁶ observa que la proporción de enfermos terminales renales debido a la diabetes es mayor en los nativos americanos e hispánicos, así como en sujetos de raza negra.

En un estudio realizado en Italia por Garancini y cols.⁵⁷ se demuestra que la microalbuminuria estaba presente en el 20,9% de los pacientes a los 5 años de su enfermedad, alcanzando un nivel máximo (25,8%) a los 10 años. Sin embargo, las manifestaciones clínicas de la nefropatía en los diabéticos tipo 2 es mucho menor (no supera el 10%), siendo responsable directa de su muerte en el 2-9%.²⁵ Schmechel⁵⁸ encuentra nefropatía en el 22% de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

En la diabetes mellitus tipo 2 la presencia de proteinuria o fracaso renal, puede objetivarse en el momento del diagnóstico de la diabetes. La incidencia acumulativa de proteinuria es muy similar a la hallada en la diabetes mellitus tipo 1 con el paso del tiempo, a diferencia del fracaso renal que alcanza en la diabetes tipo 2, a los 31 años de evolución, una tasa inferior al 10%.⁵⁹ A pesar de esto, es mayor el número de pacientes con diabetes tipo 2 sometidos a programas de diálisis o trasplante renal debido, como es lógico, a su mayor prevalencia.⁶⁰

III. ETIOPATOGENIA

Se han descrito diversos mecanismos potencialmente implicados en la etiopatogenia de la nefropatía diabética,^{61, 62} siendo difícil de aceptar que un único factor pueda ser el responsable de su aparición. Por tanto parece razonable postular que la etiopatogenia

de la nefropatía es plurifactorial, al igual que sucede en el resto de las complicaciones de la diabetes.

La mayor predisposición a padecer microangiopatía está en relación con la duración de la enfermedad y con el control metabólico,⁶³ aunque se pueden asociar otros mecanismos como son las anomalías en la microcirculación, en la hemostasia o en la susceptibilidad genética.⁶⁴

En la patogenia de la nefropatía diabética, por tanto, se han descrito una serie de factores involucrados entre los que podemos agrupar:

- a) Factores genéticos
- b) Factores hemodinámicos
- c) Factores bioquímicos
- d) Factores hemorreológicos y hemostáticos
- e) Factores endoteliales

A. FACTORES GENÉTICOS

Se ha sugerido que la aparición de la nefropatía diabética podría estar relacionada con una determinada base genética. Esta se fundamenta, en primer lugar, en el hecho de que es muy raro el desarrollo de una nefropatía diabética en pacientes con evolución de la diabetes superior a los 30 años.⁶⁵ Viberti⁶⁶ demostró que los padres de niños diabéticos con proteinuria, tenían tensiones arteriales superiores a las de los padres de niños diabéticos sin proteinuria. En los pacientes diabéticos con proteinuria o microalbuminuria se ha demostrado una mayor actividad de la bomba de transporte Sodio-Litio (marcador genético asociado al riesgo de desarrollar hipertensión arterial), superior a los pacientes normoalbuminúricos.^{67, 68}

El contrartransporte sodio-litio es una forma de funcionamiento de transporte acoplado sodio-hidrógeno. Este sistema es fundamental en el crecimiento y replicación celular, así como la reabsorción renal de sodio y bicarbonato. Viberti⁶ propone que cuando la diabetes afecta a un sujeto con hiperactividad heredada del transporte acoplado sodio-hidrógeno aumenta considerablemente el riesgo de nefropatía diabética.

La actividad del sistema de contrartransporte sodio-litio o sodio-hidrógeno como consecuencia de la hipertrofia glomerular, un aumento de la resorción tubular renal de sodio o hiperplasia vascular endotelial, además de la disminución de la actividad de la bomba calcio-ATPasa, presencia de polimorfismos del gen receptor de la insulina o del gen del enzima convertidor de la angiotensina, son los factores genéticos que se cree mas involucrados.^{69, 70, 71}

El riesgo de padecer esta complicación de la diabetes mellitus tipo I se asocia a la predisposición genética de hipertensión arterial, de forma que esta situación aumenta la susceptibilidad para la nefropatía.^{72,73} Por tanto, la hipertensión arterial no es consecuencia del fallo renal, sino que puede ser un factor importante en su desarrollo.⁷⁴

Se ha comprobado que en los pacientes que tienen a uno de sus padres hipertensos, el riesgo de nefropatía se triplica. También se ha observado una mayor incidencia de hipertensión en los padres de pacientes diabéticos tipo I con proteinuria.⁷⁵

Numerosos autores han encontrado mayor incidencia de nefropatía diabética en pacientes diabéticos de diferentes razas, pero siempre en relación con la edad y tiempo de evolución de la enfermedad.^{5, 76, 77, 78, 79, 80}

Recientemente se viene hablando de la predisposición genética a padecer nefropatía, como consecuencia de un alteración hemodinámica renal. Weatherall⁸¹ describe un serie de halotipos en relación con la regulación de la hemodinámica renal. Khoury⁸² habla de una serie de marcadores genéticos en relación con el enzima convertidor de la angiotensina I. Doria⁸³ encuentra una asociación entre las diferentes secuencias del locus del enzima convertidor de la angiotensina I y las complicaciones renales en 151 pacientes diabéticos tipo I. Se ha descrito un marcador, el genotipo II del gen del enzima convertidor de la angiotensina, que reduce el riesgo de nefropatía,^{84, 85} pero no es así con otras complicaciones vasculares como la retinopatía.

Por otro lado, en algunos estudios se ha insinuado una mayor incidencia de la nefropatia en pacientes diabéticos con determinados antígenos de histocompatibilidad: HLA-B2,⁸⁶ HLA-DR4,⁸⁷ HLA-B8 y B15.⁸⁸

Un hecho incuestionable a favor de la teoría genética es que la nefropatía diabética sólo afecta al 30-35% de los pacientes diabéticos tipo I. Pero ¿qué ocurre en el

restante 70%? ¿Qué es lo que induce o protege contra el daño renal? El hecho debe residir en una susceptibilidad genética frente a algunos aspectos del síndrome diabético.

B. FACTORES HEMODINÁMICOS

Los datos acumulados de estudios experimentales apoyan la hipótesis de que las alteraciones hemodinámicas que se observan precozmente, tanto en la diabetes clínica como experimental, pueden estar implicados en el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética.

Hoy día está perfectamente demostrado que desde el mismo inicio de la diabetes, una buena parte de los pacientes presentan evidentes alteraciones en la hemodinámica renal, caracterizados fundamentalmente por un aumento del filtrado glomerular^{89, 90, 91} y del flujo plasmático renal.^{92, 93} Esta hiperfiltración glomerular está relacionada con el grado de control metabólico, se corrige al normalizar estrictamente la glucemia^{94, 95, 96} y generalmente se acompaña de hipertrofia renal.^{97, 98}

Son muchos los factores que en mayor o menor grado se han sugerido que podían estar relacionados con estas alternativas hemodinámicas.

1. Hiperglucemia

Estudios experimentales y clínicos, prospectivos y retrospectivos, han demostrado que elevación de los niveles de glucosa es el factor primordial en la génesis de la nefropatía.

Algunos autores como Krolewski⁹⁹ defienden como cifras críticas valores de HbA1c superiores al 8.1%.

La eficacia y duración del tratamiento de la hiperglucemia,¹⁰⁰ regulación de la tensión arterial (TA),^{101, 102} y los factores genéticos,^{103,104,105,106,107,108} son importantes en la patogenia de la nefropatía diabética. Aunque posiblemente existe cierta influencia genética,¹⁰⁹ son los factores no genéticos relacionados con la propia diabetes y otros influenciados médicamente los que constituyen la patogenia fundamental de la nefropatía diabética.^{110, 111}

El aumento de la glucemia plasmática, de niveles normales hasta 12-13 nmol/l, incrementa en un 5-13% el filtrado glomerular y este fenómeno es más acusado en pacientes con hiperfiltración basal.^{112, 113} Por otro lado, la reducción de la glucemia mediante la infusión de insulina reduce el flujo glomerular.^{114, 115, 116}

El mecanismo por el que la hiperglucemia podría afectar el flujo renal es desconocido. Se ha sugerido que podría ser modulando la síntesis renal de prostaglandinas, aumentando la reabsorción de sodio y agua a nivel del túbulo distal o provocando alteraciones en el "Feed-back" túbulo-glomerular.^{117, 118, 119}

Otra posible causa podría ser mediante un incremento en la producción de cuerpos cetónicos, ya que recientemente se ha descrito que la infusión de estos comporta una elevación del filtrado glomerular.⁵⁶

Son mecanismos potencialmente lesivos de la hiperglucemia además de la acción tóxica de la glucosa sobre el glomérulo, alterando la replicación celular y aumentando el crecimiento renal.¹²⁰ La activación de la proteína-kinasa C aumenta la permeabilidad capilar y la síntesis de la matriz mesangial.¹²¹ El aumento en la producción de citoquinas y TGF-beta provoca hipertrofia mesangial y la glicación no enzimática de proteínas ocasiona engrosamiento y alteración de la membrana basal, entrecruzamiento de las moléculas de colágeno y expansión mesangial.¹²²

2. Hormona del crecimiento y glucagón

Ambas hormonas administradas en grandes cantidades producen, tanto en el individuo normal como en el diabético, un discreto aumento de la filtración glomerular.^{123, 124} No obstante, no se encontraron diferencias en sus niveles al comparar diabéticos hiperfiltrantes con diabéticos normofiltrantes.¹²⁵

3. Sistemas vasoactivos renales

La función desempeñada por los factores hemodinámicos en el inicio y la progresión de la nefropatía diabética ha sido estudiada de forma minuciosa durante muchos años.¹²⁶ Desde el punto de vista experimental la diabetes se ha asociado a vasodilatación de la arteriola glomerular aferente sin dilatación correspondiente de la arteriola eferente, proceso que origina hiperfiltración e hipertensión intraglomerular.¹²⁷ Se cree que este último factor puede contribuir de forma significativa al desarrollo de

una glomeruloesclerosis progresiva acompañado de una hipertrofia glomerular.¹²⁸ En este mecanismo juegan un importante papel los sistemas vasoactivos renales.

La hemodinámica renal depende del equilibrio entre los sistemas vasoactivos existentes. En animales de experimentación se ha demostrado que existe una hiperproducción de prostaglandinas renales^{129, 130} y una inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona,^{131, 132} habiéndose sugerido en algunos estudios en humanos que podría existir un desequilibrio entre los sistemas vasoconstrictores y vasodilatadores con predominio de estos últimos.^{27,133,134} Esta hipótesis sería coherente con la disminución de la resistencia arteriolar aferente hallada en ratas diabéticas.¹³⁵

Otros factores que podrían contribuir a la vasodilatación intrarrenal de los pacientes diabéticos y de esta manera favorecer la hiperfiltración glomerular serían una posible disminución en el número de receptores de la angiotensina II¹³⁶ y una menor sensibilidad vascular a la angiotensina II y a las catecolaminas endógenas.¹³⁷

También se ha comprobado como en los pacientes diabéticos hay un descenso en la secreción renal de algunos importantes enzimas vasoactivos (vasodilatadores), como los del sistema calicreína-cinina,¹³⁸ favoreciendo el deterioro de la función renal.¹³⁹

Ya habían diagnosticado Adetuyibi¹⁴⁰ y Margolius¹⁴¹ que la calicreína urinaria desciende en la hipertensión arterial. En la nefropatía diabética incipiente la calicreína renal incluso asciende, aunque posteriormente se normaliza y disminuye su secreción en correlación lineal con el aclaramiento de creatinina¹⁴² como consecuencia de la lesión en la nefrona distal (lugar de síntesis).

4. Factor natriurético atrial

En base al aumento del líquido extracelular que tienen los pacientes diabéticos,¹⁴³ se ha postulado que podría existir en ellos un aumento en la concentración plasmática de factor natriurético atrial y esto contribuirían a la hiperfiltración existente.¹⁴⁴ Aunque algún estudio experimental en ratas diabéticas, parece apoyar esta hipótesis,^{145,146} en humanos no se han confirmado estos hechos.¹⁴⁷

Jungmann¹⁴⁸ estudia durante un año los niveles plasmáticos de péptido atrial en 19 pacientes diabéticos tipo I con nefropatía y los compara con otros parámetros de

función renal como el aclaramiento de creatinina, alfa-1-microglobulina y presión arterial, no encontrando correlación con ninguno de ellos.

Parece ser que en los pacientes diabéticos el papel del péptido natriurético no es relevante, frente a otros sistemas vasoactivos renales como demostraron Persson y cols.¹⁴⁹ y posteriormente Kircheheim.¹⁵⁰

En el inicio y desarrollo de la nefropatía diabética lo más importante es la hipertensión arterial capilar glomerular. Brenner y cols.⁷⁶ comprueban que la nefropatía diabética puede ser prevenida y atenuada con medidas que normalicen la presión glomerular, como la dieta hipoproteica o con inhibidores del enzima de conversión de la angotensina (ECA).

Brenner¹⁵¹ indica que la hiperfiltración glomerular podría ser la resultante de alteraciones en: flujo plasmático renal, flujo plasmático glomerular, presión coloidosmótica en los capilares glomerulares, gradiente de presión hidrostática transglomerular y coeficiente de ultrafiltración hidrostática eficaz. Por tanto, la hiperfiltración glomerular y la hipertensión capilar glomerular son los factores hemodinámicos mas importantes implicados en la patogenia de la nefropatía diabética, aunque se desconoce por qué mecanismo se lesiona el glomérulo.

C. FACTORES BIOQUÍMICOS

La hiperglucemia crónica condiciona la glicación de una serie de proteínas, entre las que se encuentran los componentes de la membrana basal glomerular. En este sentido esta bien demostrada a este nivel la alteración de la síntesis y metabolismo del colágeno,^{152, 153} así como una disminución en la concentración normal de ácido siálico y sulfato de heparán.^{59, 154, 155} El resultado de todo ello será, no sólo un cambio estructural de la membrana basal glomerular, sino una disminución en su funcionalidad ya que al disminuir su carga eléctrica negativa se facilitará la filtración de moléculas aniónicas como la albúmina, hecho que contribuirá a la aparición de la proteinuria.¹⁵⁶

Por otra parte, se ha sugerido¹⁵⁷ que el colágeno glicado tendrá una especial afinidad para unirse a macromoléculas como la albúmina y la Ig G, pudiendo de esta manera actuar como antígeno o anticuerpo en la formación de inmunocomplejos que contribuirán a la lesión de la pared vascular.

La evidencia de una relación causal entre los trastornos metabólicos producidos por la hiperglucemia y el déficit de insulina con el desarrollo de la nefropatía diabética se pone de manifiesto por una serie de hechos que vamos a comentar:

- En primer lugar es evidente que al principio de la diabetes la membrana basal de los capilares es normal y se precisa al menos de dos años para que se inicie el engrosamiento.¹⁵⁸
- Existe una correlación significativa entre el desarrollo de nefropatía diabética y la duración de la diabetes.^{159, 160, 161}
- Hay un efecto beneficioso del control glucémico sobre la hiperfiltración e hipertrofia glomerulares, así como sobre la microalbuminuria.^{35, 162}
- Se produce nefropatía en diabetes secundarias¹⁶³ y experimentales.^{164, 165}
- Se produce regresión de las lesiones glomerulares con el trasplante de páncreas, tanto en modelos animales^{166, 167} como en humanos.¹⁶⁸
- Desarrollo de nefropatía diabética al trasplantar riñones de donantes normales a receptores diabéticos en animales de experimentación¹⁶⁹ y en seres humanos.^{170, 171}
- Se encuentra reversibilidad de las lesiones típicas de nefropatía diabética al trasplantar riñones de diabéticos en receptores no diabéticos, tanto en animales¹⁰⁹ como en seres humanos.¹¹⁰

Las pruebas realizadas en animales apoyan firmemente la teoría metabólica al comprobarse que las alteraciones funcionales y estructurales de la nefropatía diabética en sus fases iniciales dependen de la hiperglucemia u otros trastornos metabólicos acompañantes.

Los estudios controlados realizados en seres humanos para establecer la relación entre control metabólico y el desarrollo de nefropatía diabética no son tan persuasivos. En todos ellos se ha comprobado una disminución de la excreción urinaria de albúmina mediante el tratamiento insulínico intensivo (bombas de infusión), frente al tratamiento convencional.^{111, 172}

En el estudio de Steno¹⁰¹ se apreció una disminución del filtrado glomerular renal después de dos años de tratamiento intensivo.

Los resultados publicados por el Grupo de Investigación del Control de la Diabetes y sus complicaciones (DCCT) a lo largo de los últimos años son más bien críticos.^{173,174,175,176}

D. FACTORES HEMORREOLÓGICOS Y HEMOSTÁTICOS

En los pacientes con diabetes mellitus se han descrito alteraciones hemorreológicas^{177,178} así como alteraciones funcionales de las plaquetas^{179,180} que condicionan un cierto estado de hiperagregación plaquetaria. Se desconoce cual puede ser la importancia de este hecho en la etiopatogenia de la microangiopatía diabética en general y en la nefropatía en particular, pero lo cierto es que algunos autores han demostrado que el uso de fármacos inhibidores de la agregación plaquetaria disminuye el grado de proteinuria.^{181,182,183}

Se ha comprobado en pacientes diabéticos que puede estar incrementado el factor VIII de la coagulación¹⁸⁴ y el activador del plasminógeno,¹⁸⁵ sobre todo en pacientes que desarrollan una microangiopatía.

Microangiopatía diabética. Alrededor del 40% de los diabéticos presentan nefropatía (un tercio de los diabéticos tipo 1 y un cuarto de los diabéticos tipo 2⁴⁸), de ahí que se haya convertido en el determinante más importante del desarrollo de insuficiencia renal terminal.¹⁸⁶ La diabetes afecta al riñón frecuentemente y generalmente cuando hay *nefropatía* ya hay *neuropatía* y *retinopatía* asociadas generando un gran impacto en los costes de la sanidad en cuanto morbilidad y mortalidad.¹⁸⁷

Retinopatía diabética. Tiene una fuerte concordancia con la nefropatía diabética de acuerdo con elementos comunes en su patogenia. La retinopatía diabética y otras complicaciones oculares relacionadas con la diabetes, puede ser causa de ceguera a través del edema macular, hemorragias en vítreo, desprendimiento de retina traccional o por glaucoma neovascular. En España un estudio de Fernández Vigo¹⁸⁸ sobre 3.000 pacientes diabéticos señala una prevalencia de retinopatía del 39.8%. En la serie de diabéticos en tratamiento renal sustitutivo, Pérez García et al hallan un 77% de complicaciones oftalmológicas.¹⁸⁹ El empleo de IECA puede no solo frenar la evolución de la nefropatía diabética sino también la retinopatía.¹⁹⁰

Neuropatía diabética. La diabetes también produce alteraciones en el sistema nervioso periférico y autonómico. Su prevalencia en España se sitúa en torno al 23%.¹⁹¹ El tratamiento intensivo con insulina en la diabetes tipo 1 y con hipoglucemiantes orales o insulina en la tipo 2, manteniendo un control cercano al óptimo, con cifras de hemoglobina glicosilada por debajo del 7%, es el único medio eficaz de impedir su aparición o detener su progresión una vez que la neuropatía está instaurada. Por lo general la neuropatía, tanto somática como autonómica, no retrocede después del trasplante renal, incluso si se asocia el trasplante pancreático, a excepción de cierta mejoría de la conducción motora.

La nefropatía suele ser diagnosticada a los 10-15 años del diagnóstico de diabetes donde aparece microalbuminuria de forma persistente. El término nefropatía diabética se refiere a todas las lesiones renales que aparecen en el riñón diabético:

- a) Hay lesiones por hialinización tanto en la arteriola aferente (más específica) y eferente.
- b) Las lesiones glomerulares son muy frecuentes y entre ellas hay que mencionar la glomeruloesclerosis diabética difusa que es la lesión más común, y consiste en un aumento difuso de la matriz mesangial y un ensanchamiento de la membrana basal glomerular.
- c) La otra lesión glomerular es la glomeruloesclerosis nodular que es la lesión más específica (lesión de Kimmestiel-Wilson) aparece en el 15% de los enfermos con nefropatía diabética y siempre se asocia a la forma difusa. Consiste en nódulos PAS + situados generalmente en la perifería del glomérulo.
- d) Las células de Armani-Ebstein son células epiteliales del túbulo distal y proximal, cargadas de glucógeno siendo una lesión patognomónica de diabetes.

E. FACTORES ENDOTELIALES. ANGIOPATÍA DIABÉTICA

La macroangiopatía diabética consiste en una aterosclerosis que se diferencia de los individuos no diabéticos porque se produce de una manera más rápida, extensa y precoz y aparece por igual en hombres y mujeres, no existiendo diferencias ni anatomopatológicas entre los diabéticos y la población general. Se manifiesta tanto en la diabetes tipo 1 como en la tipo 2, aumenta al aparecer la nefropatía diabética, se

incrementa con el avance de ésta y no desaparece tras la terapia renal sustitutiva mediante diálisis o trasplante renal.¹⁹² La macroangiopatía constituye de hecho la causa más frecuente de muerte en pacientes trasplantados con éxito.^{193, 194} La aterosclerosis se debe a una serie de factores tales como:

- a) Hipertensión arterial.
- b) Aumento de LDL (low density lipoprotein) colesterol (recientes estudios en ratas diabéticas demuestran un descenso de HS a nivel del hepatocito que reduce la captación de LDL,¹⁹⁵ al igual ocurre con el adipocito que reducirá la captación de triglicéridos¹⁹⁶).
- c) La glicosilación no enzimática de lipoproteínas.
- d) Aumento de la adherencia plaquetaria.
- e) La hipercoagulabilidad.
- f) La disminución de la capacidad fibrinolítica.

Hay otros factores tales como el dermatán sulfato, heparin cofactor II, y el F 1+2 péptidos del factor X activado que han sido estudiados como indicadores para complicaciones cardiovasculares, no encontrándose el valor predictivo que se esperaba de ellos.¹⁹⁷ La aterosclerosis produce síntomas variados dependiendo de la localización:

- a) En vasos periféricos produce, claudicación intermitente, y facilitación de la aparición de úlceras, gangrena, y amputación.
- b) Impotencia de origen vascular en el varón.
- c) Arteriopatía coronaria: angor, infarto agudo de miocardio, siendo más frecuentes sus formas silentes o indoloras, debido a la neuropatía asociada a la diabetes, considerando que ese riesgo cardiovascular no desaparece tras la terapia renal sustitutiva, algunos protocolos incluyen un cribado para detectar enfermedad coronaria silente en los pacientes con diabetes tipo 1 candidatos a trasplante renal, ya que se les podría practicar alguna técnica de revascularización que pudiera disminuir su morbimortalidad cardiovascular.

d) Arteriopatía cerebral: accidentes isquémicos transitorios, accidentes cerebrovasculares.

Las coronariopatías y los accidentes cerebrovasculares siguen constituyendo la principal causa de mortalidad en pacientes con diabetes tipo 2, con un porcentaje mayor aún que en los que presentan en la diabetes tipo 1. Estas dos últimas patologías son causa de muerte del 80% de esta población.¹⁹⁸

En los últimos años se ha conocido la importancia del endotelio vascular en la regulación autocrina, paracrina y endocrina. Puede afirmarse que la fisiología y fisiopatología del sistema vascular es en la actualidad incomprensible, si no se considera esta porción luminal de la capa íntima de los vasos. A la luz de los hallazgos sobre el papel que el endotelio desempeña en la regulación del sistema vascular se ha postulado recientemente la posibilidad de que esta monocapa de la pared del vaso intervenga de manera sustancial en el desarrollo de la hipertensión arterial en pacientes diabéticos.

Los datos que se disponen en la actualidad son no obstante contradictorios, ya que existen algunos estudios en los que no se ha observado alteración en las respuestas vasomotoras endotelio-dependientes.^{199, 200}

El endotelio sintetiza una gran cantidad de sustancias a través de las cuales regula, desde el tono vascular a los fenómenos de agregabilidad y adhesividad plaquetaria,²⁰¹ pasando por la actividad simpática perivascular,²⁰² la recaptación por la terminación presináptica de aminas biógenas²⁰³ y la proliferación e hipertrofia del músculo liso subyacente.¹⁴¹

Desde el punto de vista vasomotor, el endotelio libera una serie de sustancias que están involucradas en las alteraciones vasculares de la diabetes; unas actúan como factores relajantes y otras como factores contráctiles:

1. Factores relajantes:

- a) Disminución del óxido nítrico basal.
- b) Disminución del óxido nítrico estimulado.
- c) Disminución de la prostaciclina.

2. Factores contráctiles:

- a) Aumento del tromboxano.
- b) ¿Aumento de endotelina?

1. Factores relajantes

El antiguo concepto de que el endotelio vascular es una capa de células inertes está ya desacreditado. Hoy día se sabe que el endotelio es una unidad funcional con propiedades endocrinas, capaz de sintetizar sustancias que permiten mantener basalmente un estado de vasodilatación permanente: EDRF (endotelium derived relaxing factor).

Palmer y cols.²⁰⁴ usando simultáneamente un ensayo químico y un bioensayo demostraron que el EDRF era idéntico al Óxido Nítrico, que se libera continuamente desde las células endoteliales bajo la acción de la bradicinina, permitiendo un tono basal de vasodilatación. Posteriormente Ignarro²⁰⁵ estableció que el óxido nítrico era un microvasodilatador endógeno.

Actualmente no existen marcadores fiables de actividad del óxido nítrico "in vivo".

El óxido nítrico interviene en la fisiología de la circulación renal actuando a nivel del mesangio, células musculares lisas de los vasos y epitelio tubular.²⁰⁶ Es probable que la acción vasodilatadora del óxido nítrico sea sinérgica a la prostaglandina I.²⁰⁷

El óxido nítrico juega un papel importante en la regulación excretora renal en condiciones basales. Al inhibir la síntesis de óxido nítrico se afectaría en primer lugar la función excretora de los túbulos (que serían los más sensibles) y posteriormente los vasos (aumento de las resistencias vasculares renales y sistémicas²⁰⁸).

El óxido nítrico ha sido estudiado inicialmente en pacientes con hipertensión arterial. Vallace²⁰⁹ en hipertensos y diabéticos encuentra disminución del óxido nítrico.

Corbett y cols.²¹⁰ sugieren que el óxido nítrico puede ser el agente casual en la aparición de las alteraciones vasculares de la diabetes. El óxido nítrico produce sus efectos a través de la guanilato-ciclasa soluble, con el consiguiente aumento de los niveles intracelulares de GMP cíclico.²¹¹ Una forma indirecta de evaluar la liberación

tónica de óxido nítrico es medir los niveles de GMP cíclico en el músculo liso. Existen dos trabajos en los que se han medido los niveles de GMP cíclico en vasos procedentes de animales diabéticos con resultados contradictorios.^{139, 212}

Otra manera de valorar la producción basal de óxido nítrico consiste en evaluar la respuesta “in vivo” a los análogos de la L-arginasa, precursor fisiológico del óxido nítrico,²¹³ a través de la reacción catalizada por alguno de los isoenzimas de la óxido sintetasa.

Es interesante destacar que la liberación estimulada del óxido nítrico, evaluada a través de la respuesta a la acetilcolina, no estaba deteriorada en los pacientes diabéticos,²¹⁴ aunque otros autores si la encuentran descendida^{215,216} y esto se explica porque la diabetes afecta selectivamente al receptor muscarínico, pero las modificaciones en la respuesta a otras sustancias (histamina, bradicinina, etc.) sugiere un defecto generalizado de la liberación de este factor endotelial.

Gupta²¹⁷ comprueba que la hiperglucemia produce una disminución endotelio-dependiente de la actividad ATPasa-Na+K+ dependiente que revierte tras la adición de L-arginina, implicando al óxido nítrico en la génesis de este efecto de la hiperglucemia.

Además del óxido nítrico, la prostaciclina es el segundo de los factores endoteliales relajantes implicada fehacientemente en las complicaciones vasculares de la diabetes. Este derivado del ácido araquidónico posee efectos vasodilatadores y antiagregantes.²¹⁸

Existen abundantes datos que sugieren una menor síntesis de una sustancia, en la pared vascular de distintos lechos vasculares arteriales en diferentes enfermedades,^{219, 220} así como en la diabetes.^{58, 221}

Junto a modificaciones en la tasa de síntesis de prostaciclina se ha encontrado que en estos vasos de diabéticos la prostaciclina produce vasoconstricción paradójica, en el lugar de la vasodilatación que ocasiona en vasos sanos.²²² Esta vasoconstricción podría estar mediada por la liberación de eicosanoides vasoconstrictores como el tromboxano A₂.

2. Factores contráctiles

El más estrechamente relacionado con la diabetes es el tromboxano A_2 .²²³ Las respuestas contráctiles endotelio-dependientes inducidas por la acetilcolina en la aorta abdominal de conejos controles preincubados en altas concentraciones de glucosa son abolidas por la inhibición de la ciclooxigenasa y por el antagonista del receptor del tromboxano SQ29548.²²⁴

Cuando se miden por técnicas de RIA los niveles de tromboxano basales y tras estimulación con acetilcolina, estos niveles se encuentran más elevados en los vasos de animales diabéticos que los controles.²²⁵ Sin embargo, las concentraciones de glucosa utilizadas durante la preincubación de los vasos en estos experimentos se sabe que producen daño tóxico a las células endoteliales.¹³⁹

Gebremedhin y cols.²²⁶ han demostrado que es necesario inhibir la ciclooxigenasa (enzima que participa en la síntesis del tromboxano) para poder observar una alteración en la respuesta endotelio-dependiente a acetilcolina en los segmentos vasculares. Por otro lado sí existe acuerdo entre los distintos autores en relación al aumento de los niveles basales de tromboxano A_2 del probable origen plaquetario en la diabetes,^{227, 228} así como una mayor sensibilidad del músculo liso a este agente vasoconstrictor.^{229, 230}

Estudios experimentales en ratas han corroborado el papel del tromboxano glomerular, aumenta al inicio de la nefropatía y que este junto a las endoperoxidasas perpetúan el daño glomerular.²³¹

Respecto a otros agentes endoteliales vasoconstrictores, sólo se ha podido comprobar que la endotelina I aumenta su producción cuando hay situaciones concretas de hiperinsulinismo, sin que hasta ahora se pueda relacionar con la patogenia de la diabetes.^{232, 233, 234}

Collier y cols.²³⁵ han observado un incremento de la endotelina plasmática en pacientes con microalbuminuria y por tanto en pacientes con nefropatía en fase de transición.

Fukui²³⁶ ha demostrado en ratas diabéticas que el aumento de la endotelina I se debe a un elevado número de sus receptores a nivel glomerular, mediado posiblemente por una mayor predisposición genética.

IV. CLÍNICA

La nefropatía diabética que puede definirse como proteinuria persistente de más de 0,5 gr/24 horas, suele desarrollarse tras 12-20 años de diabetes. Viene precedida de una larga fase silente en la que pueden detectarse en el riñón alteraciones tanto estructurales como funcionales, a menudo desde una etapa muy precoz en el curso de la diabetes.^{237, 238}

Estos cambios funcionales pueden ser considerados según las tres principales fases de la historia natural de la nefropatía diabética:

- a) Fase precoz
- b) Fase de transición
- c) Fase tardía

En el desarrollo de la nefropatía diabética se pueden distinguir varios estadios:^{237, 238}

A. FASE PRECOZ

En la fase inicial de la nefropatía del paciente diabético se producen una serie de alteraciones funcionales que vamos a estudiar detalladamente:

Estadio I: Hipertrofia renal-hiperfunción. Clínicamente uno de cada tres pacientes presentan un aumento del filtrado glomerular, en las fases iniciales, que se acompaña de un aumento del tamaño renal y del transporte máximo de glucosa. Hay un aumento del volumen glomerular y de la superficie de los capilares glomerulares, cambios que son reversibles con el control de la glucemia. El aumento de la presión capilar parece ser un factor decisivo en el inicio de la progresión de la nefropatía diabética. En esta fase la presión arterial aún es normal.

1. Hiperfiltración glomerular

La hiperfiltración glomerular (índice de filtración glomerular aumentado de forma anormal) puede observarse en el hombre en varias situaciones fisiológicas y patológicas,^{239, 240} pero es muy característico y más frecuente en pacientes diabéticos tipo I cuando el control metabólico no es perfecto.

Los estudios de filtración glomerular en diabéticos con nefropatía en fase inicial, han sido analizados por numerosos autores.^{241, 242}

Varios investigadores han intentado definir el estímulo específico que determina una hiperfiltración glomerular en fase temprana de la diabetes. Un factor indiscriminado ha sido la elevación de la glucemia "per se". En efecto, es posible demostrar elevaciones agudas del índice de filtración glomerular en sujetos normales cuando se infunde glucosa por vía endovenosa hasta alcanzar niveles hiperglucémicos, pero dichas elevaciones del filtrado glomerular han sido moderadas, con incremento del orden del 6-15%.^{6, 243} En los pacientes diabéticos el grado de hiperfiltración es mucho mayor²⁴⁴ y desciende cuando se infunde insulina, aunque la deficiencia de insulina es una causa improbable de las elevaciones del índice de filtración glomerular.

Además de estos niveles alterados de glucosa y de las hormonas metabólicamente relacionadas (insulina, glucagón, hormona del crecimiento), es posible que en la diabetes tengan lugar numerosas alteraciones de los niveles circulantes de hormonas vasoactivas y de las respuestas vasculares a dichas hormonas.²⁴⁵ Christlieb ha demostrado que los niveles de renina generalmente están deprimidos en animales de experimentación con una diabetes en fase temprana. La disminución de la actividad de la renina se ha relacionado con la tendencia a la expansión del volumen sanguíneo, que podría contribuir a la elevación del índice de filtración glomerular.

En ratas con diabetes inducida con estreptozotocina Ballermann y cols. han demostrado que no solamente no aumentan los niveles de renina circulantes, sino tampoco los de angiotensina II que se fija en los glomérulos diabéticos. También se han demostrado alteraciones de la producción de catecolaminas y prostaglandinas y/o una reducción de las respuestas vasculares a dichas sustancias en diversas circunstancias asociadas a la diabetes.^{9, 246}

Kock-Jensen²⁴⁷ indica que la producción renal de prostaglandina podría ser un factor especialmente importante en la filtración glomerular en animales de experimentación en una fase temprana de la diabetes, dado que la administración de indometacina en dichos animales se asoció con reducciones sustanciales del filtrado glomerular. Shambelan²⁴⁸ demuestra una síntesis aumentada de prostaglandinas en glomérulos aislados obtenidos de ratas diabéticas.

Estos estudios resaltan el importante papel desempeñado por la alteración de la síntesis de prostaglandinas renales en las modificaciones hemodinámicas de la diabetes en su fase temprana.

Los fundamentos hemodinámicos intrarrenales de hiperfiltración en pacientes diabéticos, también han sido estudiados.

La filtración glomerular está gobernada por cuatro factores:

En primer lugar, el flujo plasmático glomerular afecta a la presión media de la ultrafiltración y en consecuencia mantiene una relación directa con el índice de filtración glomerular. En diabéticos en fase temprana el flujo plasmático renal está íntimamente relacionado con el estado de hiperfiltración.^{5, 6, 249} Dado que el flujo plasmático renal se estima por el método de depuración del para-aminohipurato se ha utilizado, aunque algunos lo discuten, para evaluar la función renal en los pacientes diabéticos con nefropatía incipiente.²⁵⁰

En segundo lugar es la presión osmótica sistémica la que interviene en buena parte de la regulación del flujo glomerular. En la diabetes mellitus no se han encontrado alteraciones de esta presión osmótica, de acuerdo con las estimaciones de las concentraciones de diferentes proteínas plasmáticas.⁴

El tercer factor determinante del índice de filtrado glomerular es la diferencia de presión hidráulica transcápilar glomerular, la cual no puede ser determinada en el ser humano.

El cuarto y último factor es el coeficiente de ultrafiltración glomerular, el producto de la conductividad hidráulica capilar y el área de la superficie de la red capilar disponible para la filtración. Ninguno de dichos parámetros puede ser estimado o medido en forma independiente en la actualidad.

Las determinaciones del área capilar glomerular total muestran un claro incremento en la fase temprana de la diabetes, tanto en el ser humano como en animales de experimentación.^{251, 252} Estos hallazgos han sugerido que la hiperfiltración será la consecuencia, por lo menos en parte, del incremento del área de superficie glomerular. Se han establecido correlaciones entre el valor del índice de filtración glomerular y

determinaciones morfométricas del área de superficie glomerular en biopsias renales humanas.²⁵³

A fin de aclarar exhaustivamente las bases hemodinámicas de la hiperfiltración en la fase temprana de la diabetes, diversos estudios de diabetes experimental en ratas han empleado técnicas de micropunción. En ratas convertidas en diabéticas con estreptozocina, cuando los niveles de hiperglucemia fueron mantenidos a un nivel moderado (una media de 375 mg/dl) mediante la infusión diaria de bajas dosis de insulina, estos animales presentaron incrementos del índice de filtración glomerular por nefrona aislada de la corteza del orden de un 40%. Así en este modelo animal se reprodujo la hiperfiltración observada en la fase temprana de la diabetes humana.

Varios modelos experimentales de diabetes también han demostrado una hiperfiltración similar a la observada en la diabetes humana. Dicha hiperfiltración se registró en la diabetes en ratas inducidas por aloxano,¹³² en perros y ratas pancreatectomizadas y en dos cepas de ratones con diabetes espontánea.²⁵⁴

La hiperfiltración glomerular que se da en las fases iniciales de la diabetes se debe a múltiples factores. Se ha visto que aparece en el 25-40% de la diabetes mellitus tipo I en humanos²⁵⁵ y tiene una gran importancia en la patogénesis y desarrollo de la nefropatía diabética.²⁵⁶

En la diabetes mellitus tipo II los resultados realizados sobre el filtrado glomerular son escasos y poco concluyentes.

2. Excreción de albúmina

Estadio II: Lesión renal sin signos clínicos. Existe un aumento de grosor de la membrana basal y del mesangio, con elevación del filtrado glomerular. No hay presencia de albúmina en la orina: menor de 20µg/min (<30 mg/24 horas; <30 mg/ g de creatinina). En esta fase los enfermos tienen eliminación de albúmina sólo con el ejercicio. Estos cambios se han descrito incluso en adolescentes.²⁵⁷

La proteinuria clínicamente detectable no se encuentra presente en pacientes con una nefropatía diabética en su fase inicial. Sin embargo, durante este período de la enfermedad es posible detectar albuminuria excesivamente elevada en dos circunstancias: en pacientes con un control metabólico deficiente²⁵⁸ y después de un

ejercicio físico moderado.²⁵⁹ Estas circunstancias de estrés metabólico y físico que conducen a incrementos anormales leves, pero detectables de la excreción de albúmina no se acompañan, sin embargo, de la excreción urinaria de β_2 -microglobulina. Dado que la β_2 -microglobulina es una proteína de bajo peso molecular (aproximadamente 20.000 daltons) y con un radio molecular aproximadamente 16Å, normalmente es libremente filtrada a través de la pared capilar glomerular y reabsorbida en gran medida por el epitelio tubular proximal. Por lo tanto el índice de excreción de estas proteínas es en gran medida un indicador del grado de captación tubular de la proteína filtrada. Así una excreción constante de β_2 -microglobulina en presencia de una microalbuminuria creciente indica que el exceso de albúmina no es el resultado de una alteración de la reabsorción proteica a nivel tubular, sino derivada de un escape glomerular excesivo. Si la albuminuria es de origen glomerular el problema debe ser consecuencia de alguna alteración de los determinantes normales de la filtración proteica.²⁶⁰

El grado de filtración de proteínas plasmáticas, así como de cualquier otra macromolécula, a través de los capilares glomerulares depende fundamentalmente de tres factores:

- El tamaño de las moléculas, que determina su permeabilidad relativa;²⁶¹ en consecuencia las moléculas pequeñas (por ejemplo la insulina) no se retienen en ningún grado mensurable, mientras que la filtración de las moléculas de mayor tamaño sufren un retardo progresivo, de modo que las moléculas con un radio mayor de 40 Å atraviesan escasamente el capilar glomerular. La posibilidad de que un defecto de las propiedades selectivas del tamaño a nivel del glomérulo contribuya a la microalbuminuria de la fase temprana de la diabetes es un hecho evaluado por Mogensen y confirmado posteriormente por Myers y cols.²⁶²
- Además de ser selectiva la pared capilar glomerular con el tamaño de las moléculas también hay selectividad de carga macromolecular, dado que las macromoléculas con carga negativa se filtran con mayor dificultad que las macromoléculas neutras o con carga positiva de un tamaño equivalente.²⁶³ Es improbable que la microalbuminuria temprana, inducida por descontrol metabólico y el ejercicio físico, se deba a modificaciones de la selectividad de cargas, ya que desaparece demasiado rápidamente como para ser atribuidas a modificaciones de las propiedades eléctricas de la pared capilar glomerular.²²

- El tercer determinante de la filtración de proteínas a través del glomérulo es el conjunto de fuerzas hemodinámicas que operan a través de la pared glomerular. Las modificaciones de las presiones y flujo glomerular afectan tanto a las fuerzas de difusión como a la fuerza de convención para el flujo transglomerular de las macromoléculas.²⁶⁴

En pacientes y animales diabéticos, incluso en presencia de grados moderados de hiperglucemia, se observan alteraciones hemodinámicas renales de importancia que responden rápidamente a las modificaciones del control metabólico.

La microalbuminuria detectada en fases tempranas de la diabetes mal controlada probablemente sea la consecuencia, por lo menos en parte, de alteraciones asociadas a la hemodinámica glomerular²⁶⁵ e incluso a alteraciones sistémicas.^{23, 266}

Por tanto en las fases iniciales de la nefropatía diabética la presencia aislada de albuminuria tras ejercicio físico o por un mal control metabólico va a tener poco significado en términos de la evolución posterior de la enfermedad renal.

3. Función tubular

En la fase temprana de la diabetes también es posible detectar alteraciones de la función tubular. En estos pacientes hay una elevación considerable de los índices máximos de reabsorción de glucosa.²⁶⁷ La reabsorción absoluta de sodio, también está aumentada.²⁶⁸ Esto último probablemente se deba al cotransporte tubular proximal asociado con la glucosa, la cual se encuentra presente en concentraciones anormalmente altas.

Por otra parte, la reabsorción tubular de fosfato se encuentra reducida en estos pacientes diabéticos, al parecer en relación con el nivel de glucemia y no de los niveles de hormona paratiroidea o del crecimiento, como cabría esperar.

Las repercusiones relacionadas con la función renal global de estas alteraciones del transporte de sodio, glucosa y fosfato se desconocen.

B. FASE DE TRANSICIÓN

La nefropatía diabética va progresando pudiendo aparecer un signo clínico como es la hipertensión arterial; sigue aumentando la tasa del filtrado glomerular, pero el hecho fisiopatológico fundamental que define este estadio de la diabetes mellitus es la presencia de microalbuminuria.

Estadio III: En esta etapa, a los 10-15 años, aparece la microalbuminuria persistente en reposo 20-200µg/min (30-300mg/24horas; 30-300mg/ g de creatinina). Se trata de una nefropatía incipiente. La microalbuminuria es el marcador precoz más utilizado como indicador de nefropatía, parece predecir la mortalidad cardiovascular de los diabéticos.²⁶⁹ La microalbuminuria puede ser corregida con un control exacto de la hipertensión y la hiperglucemia, siendo pues una fase aún reversible.¹ Realmente el límite de 30 mg/día para la consideración de microalbuminuria es aleatorio, ya que es una variable continua desde la normalidad total, y se ha visto que el riesgo de progresión de la nefropatía diabética y de las complicaciones cardiovasculares empieza ya antes de los 20 mg/día.

1. Microalbuminuria

Se entiende por microalbuminuria la excreción urinaria de albúmina entre 20-200 µg/min., que equivale a 30-300 mg/24h., en ausencia de proteinuria detectable por los métodos habituales.²⁷⁰

Hasta el momento actual la microalbuminuria sólo ha sido un parámetro de gran utilidad en la valoración del paciente diabético, no obstante existen otras situaciones, en las que se produce aumento de la excreción de microproteínas, como ocurre en la hipertensión arterial,²⁷¹ síndrome hemolítico urémico,²⁷² fiebre mediterránea familiar²⁷³ o en la glucogenosis tipo I.²⁷⁴ Además se ha utilizado como marcador de riesgo vascular en la anemia falciforme y en el déficit de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.²⁷⁵

La microalbuminuria es la primera manifestación clínica de la nefropatía diabética. Aunque en ocasiones puede aparecer mucho antes que otras alteraciones renales, e incluso antes de diagnosticar al paciente de diabetes. Mykkanen²⁷⁶ aseguró que puede presentarse microalbuminuria en el estado de prediabetes junto con otras alteraciones como la dislipemia²⁷⁷ o intolerancia a la glucosa.²⁷⁸ Inicialmente puede ser ocasional pero cuando se hace persistente conlleva un riesgo elevado de nefropatía lo que

justifica el término de nefropatía incipiente o paciente de alto riesgo.²⁷⁹ Es por tanto un signo pronóstico de nefropatía si se encuentra microalbuminuria en dos o tres muestras de orina, tomadas consecutivamente, de preferencia dentro de un plazo de seis meses. No debe de haber bacteriuria significativa en la orina, ya que se modifican los resultados. Existen situaciones con nefropatía diabética en fase avanzada en que hay ausencia de albuminuria, por lo que autores como Tsalamandris²⁸⁰ sugieren que no tiene valor pronóstico. No obstante se ha comprobado en la mayoría de los casos la correlación que existe entre albuminuria y aumento de la presión arterial²⁸¹ y otras manifestaciones vasculares de la diabetes²⁸² por lo que podemos decir que la microalbuminuria tiene valor para predecir con el menor error la evolución posterior de la nefropatía.

La microalbuminuria se origina por la hiperfiltración glomerular y la alteración selectiva de la permeabilidad de la membrana basal.^{262, 283, 284, 285}

La base estructural de la microalbuminuria sigue sin aclararse. Para unos estaría relacionada con la expansión del mesangio y para otros en el engrosamiento de la membrana basal.^{263, 286, 287} La barrera capilar sangre-orina es como una membrana con poros cargados negativamente. El paso de partículas por esta barrera depende del tamaño y carga de estas moléculas, así como del gradiente de presión intraglomerular.²⁶³ La microalbuminuria altera la selectividad de la barrera probablemente por la pérdida de cargas negativas de la membrana basal (atribuible a la pérdida del proteoglicano heparán sulfato) y consecuentemente aumenta la filtración de albúmina.^{276, 288}

La relación albuminuria/proteínas totales en personas normales es del 11% y cuando aparece microalbuminuria es del 22%.²⁷⁷

La determinación de microalbuminuria se puede hacer en orina de 24 horas o en periodos cortos de tiempo, siendo más conveniente en este caso la orina de por la noche, ya que se ha comprobado excreción más baja en posición supina.²⁸⁹ Los métodos de determinación pueden ser muy variados. Cuantitativos como el Ria, Elisa, nefelometría, fluorodifusión, etc. o cualitativos como microalbutest (cambio de color azul del tetrabromofenol en presencia de proteínas) y partículas de látex (aglutinación).^{290, 291, 292, 293, 294, 295, 296}

El diagnóstico precoz de nefropatía mediante la determinación de microalbuminuria tiene gran valor,²⁹⁷ pero además se utiliza para considerar el posible tratamiento antihipertensivo al que vamos a someter al paciente. Estudios minuciosos han comprobado^{298, 299, 300} la utilidad del screening para microalbuminuria antes de iniciar el tratamiento de la nefropatía diabética.

2. Hiperfiltración glomerular

Se ha sugerido que una tasa de filtración glomerular elevada puede ser de importancia en la patogénesis y progresión de la nefropatía diabética. En asociación con la microalbuminuria puede ser un marcador de “riesgo elevado”. Sin embargo el significado pronóstico de hiperfiltración glomerular en ausencia de microalbuminuria es incierto.^{301, 302}

C. FASE TARDÍA

Estadio IV: Cuando la eliminación de albúmina en orina es superior a 200µg/min (300 mg/24 horas; >300 mg/g de creatinina), al menos en dos ocasiones en un intervalo de tres meses, o mayor de 500 µg/min en una sola determinación. Se considera que existe proteinuria macroscópica manifiesta (nefropatía establecida) en un plazo de 3-7 años desde el inicio de la microalbuminuria persistente. El filtrado glomerular desciende un 10 % por año. Hay que minimizar el riesgo cardiovascular, por lo que habrá que mantener un control aún mayor de los factores de riesgo que en la etapa de microalbuminuria. Sólo con el control de la hipertensión, con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs), pueden frenar la evolución de la nefropatía, no siendo efectivo el control metabólico para frenar la evolución.

Es la fase de nefropatía diabética establecida. La proteinuria intermitente suele ser la primera manifestación y puede continuar a lo largo de los años antes del desarrollo de la proteinuria persistente. La aparición de proteinuria persistente señala el inicio de un deterioro gradual y progresivo de la función renal. El intervalo entre el inicio de la proteinuria y la muerte por la uremia puede variar entre pocos y 20 años. Los factores responsables de este deterioro variable de la función renal son desconocidos, pero los pacientes que presentan proteinuria e hipertensión graves parecen tener peor pronóstico.

Las alteraciones más importantes que se producen en esta fase son: hipofiltración glomerular, proteinuria e hipertensión.

1. Hipofiltración glomerular

Los mecanismos hemodinámicos responsables de la reducción del índice de filtración glomerular en la nefropatía diabética establecida no han sido completamente definidos.

Las determinaciones realizadas en pacientes con una reducción del índice de filtrado glomerular hasta valores de 20-30 ml/min., indican la presencia de reducciones proporcionales del filtrado plasmático renal, de modo que la fracción de filtración permanece relativamente constante en estos pacientes.³⁰³ En consecuencia, la reducción del índice de filtrado glomerular puede ser atribuida parcialmente a la reducción del filtrado plasmático renal. Además, también podría explicarse por modificaciones del coeficiente de ultrafiltración como consecuencia de la expansión mesangial y la oclusión capilar.^{304, 305} Sin embargo, no se ha establecido con certeza el papel funcional desempeñado por dichas alteraciones morfológicas, dado que no es posible determinar los gradientes de presión hidráulica transcapilar en un contexto clínico. De todas maneras las estimaciones efectuadas sobre la base de mediciones indirectas en pacientes con nefropatía diabética avanzada son compatibles con una reducción del coeficiente de ultrafiltración debido a una disminución de la superficie capilar glomerular disponible para la filtración.⁸⁷

La edad, sexo, inicio o duración de la diabetes, la tasa de aclaramiento de albúmina, la tasa de filtración glomerular inicial o el control de la glucosa en sangre no se relacionan con el deterioro del índice de filtración glomerular. La monitorización de la función renal en los pacientes con nefropatía diabética es importante ya que puede predecirse el curso de los sucesos en el tiempo. En los estadios precoces debe determinarse el índice de filtración glomerular, ya que la creatinina no aumenta hasta que ésta ha disminuido entre el 50% y el 75%. Una vez que el índice de creatinina ha ascendido por encima de 200 mmol/l. se correlaciona estrechamente con el estado de deterioro renal y esto puede ser estimado representando gráficamente el valor inverso de la creatinina sérica frente al tiempo.^{277, 306, 307}

2. Proteinuria

La proteinuria aumenta al tiempo que progresa la nefropatía diabética. Se define como la excreción urinaria de albúmina superior a 200 $\mu\text{g}/\text{min.}$ o 300 $\text{mg}/24\text{h.}$, que equivale a 0,5 gr. de proteínas/día.³⁰⁸

La causa íntima de la excreción aumentada de albúmina se desconoce con certeza en la nefropatía diabética, pero podríamos implicar a tres mecanismos fundamentales en su patogenia:

a) Aumento de la presión intraglomerular

“Fuerza” el paso de albúmina a través del filtro glomerular. Esto explicaría el efecto beneficioso de los antihipertensivos disminuyendo esta excreción urinaria de albúmina (todos en general y los inhibidores ECA en particular tienen un efecto más selectivo sobre el flujo glomerular).³⁰⁹ De modo similar explicaría el efecto beneficioso de la dieta hipoproteica disminuyendo también la excreción de albúmina, pues actuaría disminuyendo la aminoacidemia de conocido efecto presor en los capilares renales por su capacidad estimuladora de la secreción de prostaglandinas locales.^{310, 311}

b) Aumento del tamaño del poro

En la barrera de filtración glomerular, que lógicamente facilitaría el paso masivo de macromoléculas como la albúmina, hasta llegar progresivamente a un eventual síndrome nefrótico.^{264, 312}

c) Disminución de la selectividad de la carga eléctrica

En la membrana de filtración glomerular que facilitaría el paso de moléculas eléctricamente negativas (como la albúmina) a través de la membrana basal glomerular.³¹³ Una pérdida neta de cargas negativas a nivel de la membrana basal glomerular podría explicarse, por ejemplo, por un defecto parcial en la sulfatación de proteoglicanos que normalmente le confieren un carácter electronegativo (predeterminado de forma genética) o bien por una alteración adquirida, como resultado de una glicación proteica aumentada del colágeno de la membrana basal glomerular que determinaría cambios en la estructura terciaria y cuaternaria con efecto neto sobre su carga eléctrica de superficie.

Según las últimas investigaciones el mecanismo más precoz parece ser precisamente éste último de la alteración de la selectividad eléctrica.³¹⁴

Este mecanismo es posiblemente la clave de su precocidad. Esta claro que este cambio de selectividad eléctrica ocurre antes que la alteración en el tamaño del poro a nivel glomerular. Para demostrar este punto se ha estudiado el aclaramiento renal de dextranos de diferentes tamaños bien caracterizados así como el aclaramiento de diversas moléculas IgG. En dichos trabajos se logró calcular simultáneamente la selectividad de filtración en cuanto a tamaño de poros (aclaramiento de dextranos), así como la selectividad en cuanto a carga eléctrica (índice de selectividad eléctrica para IgG).³¹⁵ Por lógica, si hubiese una alteración de la carga eléctrica neta de las proteínas de la membrana de filtración glomerular (disminución de cargas negativas de superficie) el aclaramiento de IgG (con mayor carga eléctrica negativa) sería mayor, puesto que se perdería parcialmente la normal repulsa negativo-negativo entre las cargas de las proteínas de la membrana de filtración y las de la albúmina. Los resultados indicaron que el índice de selectividad eléctrica estaba ya drásticamente disminuido en los primeros estadios de microalbuminuria incipiente, mientras que el tamaño de los poros sólo se empezó a detectar en fase mucho más avanzada de franca proteinuria.³¹⁶

Esto se interpreta como una pérdida precoz de la selectividad eléctrica en la barrera glomerular y no en la barrera tubular.

La alteración de base en la carga eléctrica de la membrana basal glomerular se explica:

- Que se trate de un defecto en la sulfatación de los proteoglicanos de la membrana. Pudiera existir una distribución gaussiana del grado de sulfatación de los proteoglicanos, como expresión de una heterogeneidad enzimática del metabolismo de los proteoglicanos, lo que explicaría una predisposición en una parte de la población diabética a sufrir nefropatía.
- Otra explicación sería que, además de lo anteriormente señalado, se añada una glicación del colágeno de la membrana basal glomerular que produjese alteraciones estructurales proteicas con cambios de carga eléctrica neta de superficie, lo cual explicaría la tendencia a iniciarse una nefropatía generalmente leve y fácilmente

controlable con un buen seguimiento o bien la tendencia a agravarse una nefropatía diabética generalmente más severa, si ya existe una predisposición a ello.³¹⁷ Cualquiera de los dos mecanismos, o ambos a la vez, podrían explicar esta alteración en la selectividad de la carga que desencadenaría el inicio y/o progresión de la enfermedad.

3. Hipertensión

La hipertensión no parece ser una condición previa necesaria para la enfermedad renal diabética. Sin embargo, la gran mayoría de los pacientes diabéticos que evolucionan hacia la insuficiencia renal desarrollan en última instancia una hipertensión.²⁶³

Algunos autores sugieren que dicha hipertensión sería una manifestación relativamente tardía de la nefropatía diabética y que por lo tanto refleja un mecanismo similar al de la hipertensión asociada con la enfermedad renal terminal en general.³¹⁸

Estudios de Parving y cols.³¹⁹ compararon 60 diabéticos tipo I que presentaban proteinuria con 20 sin proteinuria, de igual sexo, edad, peso corporal y duración de la diabetes. Han comprobado que en el grupo de la proteinuria padecían un aumento de la presión arterial respecto al otro grupo. Las elevaciones de la presión arterial pueden preceder a la proteinuria al igual que la reducción importante del índice de filtración glomerular.²⁷⁹

Los mecanismos responsables de la hipertensión en el diabético no han sido claramente definidos.³²⁰

Obviamente, los pacientes diabéticos pueden desarrollar una hipertensión arterial esencial. Sin embargo se han sugerido diferentes mecanismos específicamente relacionados con la diabetes que podrían aumentar las probabilidades de hipertensión en dicha condición.

a) Expansión de volumen

La expansión de volumen plasmático y extracelular es considerada como consecuencia:

- Elevación del nivel de glucosa extracelular en el diabético, que actúa como una fuerza osmótica que redistribuye el líquido desplazándolo desde el compartimiento intracelular hasta el extracelular, lo que incrementa la cantidad de líquido extracelular incluyendo el volumen plasmático.
- El aumento del volumen plasmático podría actuar como estímulo temprano para incrementar el volumen minuto cardíaco lo que se reflejaría en una hipertensión sostenida.³²¹

b) Aumento de la reabsorción renal de sodio

Como consecuencia de la presencia de niveles más elevados de glucosa el diabético podría tener un aumento de la reabsorción tubular proximal de sodio impulsado por el contraste de glucosa y sodio a dicho nivel.^{322, 323} Además, la provisión de insulina puede estimular la reabsorción de sodio.^{324, 325}

Por tanto los pulsos exógenos de insulina recibidos en la diabetes mellitus tipo 1 y las elevaciones de los niveles endógenos de insulina en la diabetes mellitus tipo 2 podrían determinar un incremento de la reabsorción de sodio, lo que se asociaría a una expansión adicional del volumen y en última instancia con el desarrollo de hipertensión sistémica.³²⁶

Además en esta fase de la enfermedad renal se ha comprobado un incremento de la actividad del sistema renina-angiotensina, debido a un aumento de su actividad tisular y una mayor sensibilidad de la angiotensina II,³²⁷ lo que condiciona que se favorezca la retención tubular de sodio y agua.

c) Enfermedad renal terminal

Estadio V: Una vez iniciada la fase de proteinuria macroscópica se produce un descenso progresivo de la tasa de filtración glomerular hasta llegar a la insuficiencia renal terminal con un filtrado glomerular menor de 10 ml/min, en un plazo de 5-7 años desde el comienzo de la proteinuria macroscópica. La aparición de hipertensión suele ir paralela a la proteinuria y acelera la evolución de la enfermedad renal. Es una fase irreversible. A pesar de ser una proteinuria en rango nefrótico, las proteínas totales y la albúmina conservan cifras en el límite de la normalidad, hasta el momento del deterioro final de la función renal. En estos momentos puede haber síntomas de

uremia, anemia, hiperparatiroidismo, secundario a la insuficiencia renal y desnutrición secundaria a la pérdida proteica. El paciente diabético tolera peor la uremia y necesita iniciar la diálisis mas tempranamente que el paciente con nefropatía de otro origen. Una vez en diálisis, el deterioro es más rápido³²⁸ y su supervivencia es menor del 50 % a los dos años, mientras permanece en lista de espera para trasplante, por lo que se debería conseguir un trasplante la antes posible (renal o combinado con páncreas) si las condiciones del paciente lo permiten.

Calculando que de un 25 a un 40 % de los pacientes con diabetes tipo 1 y entre un 10 y un 25 % de los que presentan diabetes tipo 2 desarrollan nefropatía diabética, y teniendo en cuenta solo la diálisis, representa un gasto económico muy elevado.

Esta predispone al desarrollo de hipertensión debido a la tendencia a una expansión de volumen aún mayor que en los casos anteriores. Esta “hipertensión dependiente del volumen” representa el mecanismo convencional aceptado para explicar la elevación de la presión arterial en pacientes con enfermedad renal provocada por diversas causas.³²⁹

V. HISTORIA NATURAL

Las alteraciones crónicas de la microcirculación renal son responsables de índices muy elevados de morbilidad y de mortalidad, particularmente en pacientes que desarrollan diabetes en la infancia o en la juventud. Se estima que hasta el 50% de estos desarrollarán una insuficiencia renal después de transcurridos 10 a 30 años de enfermedad diabética y es la causa más común de muerte de estos pacientes.

La enfermedad renal también se asocia a la diabetes de instauración en el adulto, si bien en este caso existen otras complicaciones sistémicas que predominan.^{330, 331}

Actualmente el curso de la nefropatía diabética en la diabetes mellitus tipo I está bien definido y puede definirse en etapas en función de los hallazgos clínicos-biológicos, con todas las matizaciones que esto comporta.³³²

Existen múltiples clasificaciones posibles atendiendo a distintos datos clínicos y bioquímicos.^{53, 333, 334} El sistema de clasificación propuesto por Mogensen⁹⁸ debe seguir los siguientes criterios:

- a) Que indique la capacidad pronóstica en cuanto a la progresión de la enfermedad.
- b) Debe tener relevancia fisiológica evidente.
- c) Es importante una relación de anomalías histológicas y ultraestructurales del riñón.
- d) El sistema debe tener relación con otras anomalías vasculares características de la enfermedad o de sus complicaciones.
- e) Y lo más importante, clínicamente el sistema debe estar orientado hacia la acción, o sea, que las decisiones clínicas pueden basarse en la clasificación del paciente individual.

La clasificación de Mogensen³³⁵ destinada a pacientes con diabetes mellitus tipo 1 distingue 5 etapas:

A. ETAPA I: HIPERTROFIA E HIPERFILTRACIÓN GLOMERULAR

La hiperfiltración glomerular y la nefromegalia coexisten en el inicio de la diabetes, pero son reversibles con el tratamiento insulínico adecuado en semanas o meses.³³⁶ Es posible que exista una relación entre hiperfiltración glomerular, tamaño renal y grado de control metabólico. El índice de filtración glomerular puede caer si los pacientes presentan cetoacidosis y deshidratación considerables.

B. ETAPA II: LESIONES CON EXCRECIÓN URINARIA DE ALBÚMINA NORMAL

Se caracteriza por normoalbuminuria independiente de la duración de la diabetes. La hiperfiltración glomerular en diabéticos de corta duración puede relacionarse con el desarrollo de la nefropatía diabética, pero cuando la filtración glomerular es superior a 150 ml/min. el riesgo aumenta considerablemente.³³⁷

No se dispone de estudios prospectivos con suficiente número de pacientes con hiperfiltración glomerular y normoalbuminuria para poder definir exactamente esta etapa. Sin embargo, tanto el mal control glucémico como la hiperfiltración glomerular son necesarias para que se desarrolle la nefropatía diabética. En este contexto, el grado de susceptibilidad podría desempeñar un papel importante en el paciente individual.

C. ETAPA III: NEFROPATÍA DIABÉTICA CON MICROALBUMINURIA

Estos pacientes presentan una lesión estructural considerable y visible al microscopio,³³⁸ pero el grado de filtración glomerular está todavía conservado y hasta puede ser normal.

Los pacientes con eliminación urinaria de albúmina entre 20 y 70 mg/min. presentan índice de filtración glomerular aumentado y un nivel de filtrado glomerular más alto que los pacientes que tienen valores de albúmina entre 70 y 200 mg/min., que sugiere que la filtración glomerular empieza a declinar durante la etapa incipiente de la nefropatía.

La hiperfiltración temprana junto a la microalbuminuria (valores de excreción de albúmina urinaria entre 20 y 200 mg/min.) están relacionados con el desarrollo subsidiario de nefropatía tardía, como lo ha demostrado Mogensen y Christiansen.³³⁵ Así pues, la hiperfiltración podría participar en la patogenia de la nefropatía diabética en pacientes con microalbuminuria persistente. Pero no se puede excluir el control metabólico crónicamente insuficiente, como la causa primordial de la elevada filtración glomerular.²⁸⁷

La microalbuminuria predice la nefropatía diabética, ya que el 80% de los pacientes la desarrollan si no se interviene adecuadamente. Estos pacientes tienen una tensión arterial más elevada que los normoalbuminúricos, aunque se sitúe dentro de la normalidad.²⁶³ Existe una correlación significativa entre tensión arterial y aumento de la excreción urinaria de albúmina.

En esta etapa de la nefropatía diabética la progresión de la enfermedad renal está relacionada con la elevación de la tensión arterial y con el grado de trastorno metabólico. El control metabólico eficaz, el tratamiento con inhibidores de la ECA y dietas hipoproteicas reducen la microalbuminuria. La microalbuminuria se acompaña de retinopatía avanzada, neuropatía, perfiles de lípidos desfavorables, control glucémico más deficiente y daño renal más avanzado, aunque la función renal esté todavía conservada.

D. ETAPA IV: NEFROPATÍA DIABÉTICA MANIFIESTA

Se caracteriza por proteinuria persistente en diabéticos de más de 10 años de evolución con retinopatía asociada y ausencia de otras enfermedades renales de origen no diabético, como glomerulonefritis o infección urinaria.

Al principio de esta fase la filtración glomerular es normal o alta con creatinina sérica normal. Con el tiempo si no se interviene se va deteriorando a razón de 1 ml./min./mes, según Mogensen.

Esta caída de filtración glomerular se correlaciona con el grado de oclusión glomerular y con el engrosamiento de la membrana basal.^{263, 339}

La hipertensión arterial es frecuente en la nefropatía diabética establecida y aumenta al tiempo que declina la filtración glomerular.³³⁵ Es una hipertensión con renina baja y su control estricto es fundamental para evitar la progresión de la nefropatía diabética.

La proteinuria es creciente y cuando se superan los 3 gr./día aparece el síndrome nefrótico con hipoalbuminemia, edemas e hiperlipemia. La evolución hacia la nefropatía terminal va a depender en los distintos pacientes de una serie de factores y hallazgos bioquímicos.

Jones y cols.³⁴⁰ han relacionado la rapidez de evolución de la nefropatía diabética con la inversa de la creatinina sérica o con el logaritmo de la creatinina sérica en relación al tiempo.

También se intentó relacionar, aunque sin éxito, el índice de progresión de la enfermedad con la edad en el momento del diagnóstico de la diabetes, con la duración de la diabetes, la presencia de hipertensión arterial, etc.^{305, 341} Sin embargo Hasslacher y cols.³⁴² sí han observado que la progresión de la enfermedad renal diabética establecida se correlaciona con el nivel de presión sanguínea, los diabéticos con hipertensión se asocian con un intervalo más corto entre la instalación de una proteinuria persistente y la elevación de los niveles séricos de creatinina en relación a los observados en los diabéticos normotensos. Como ha señalado Viberti,³⁴³ la dificultad para hallar una correlación positiva entre la presión sanguínea y el índice de progresión de la insuficiencia renal en algunos estudios realizados podría ser la consecuencia del criterio generalizado de instaurar un tratamiento temprano, de la hipertensión por moderada que ella sea en estos pacientes.

El tiempo transcurrido entre la consolidación de la proteinuria y la declinación del índice de filtración glomerular clínicamente detectable, es variable. En estudios antiguos realizados antes del advenimiento de la diálisis y el trasplante como tratamiento generalizado de la nefropatía diabética terminal, indican que transcurrían como promedio 4 a 5 años entre la detección de la proteinuria y la muerte del paciente como consecuencia de la uremia. Knowles registró un índice de mortalidad del 81% 11 años después de la aparición de la proteinuria persistente.

Por lo tanto, el intervalo transcurrido entre la instauración de la proteinuria fija y el desarrollo de una insuficiencia renal establecida puede variar entre varios meses y décadas, pero la duración promedio de este periodo en la evolución de la enfermedad renal diabética parece ser de aproximadamente cinco años.

E. ETAPA V: FRACASO RENAL TERMINAL

Se caracteriza por una caída del filtrado glomerular, hipertensión arterial con renina baja, disminución de la proteinuria y deterioro progresivo de la función renal hasta la insuficiencia renal terminal. Histológicamente puede existir glomeruloesclerosis nodular, difusa o exudativa, que desembocan en la hialinosis. El síndrome nefrótico es frecuente en este estadio.

La insuficiencia renal terminal aparece generalmente a los 20-25 años de diabetes y, como hemos señalado anteriormente, cinco años después del inicio de la proteinuria persistente. Durante este tiempo se desarrollan y progresan otras complicaciones crónicas.

Legrain³⁴⁴ observa que en 105 diabéticos que iniciaron tratamiento de sustitución renal con una edad media de 45 años, casi todos presentan retinopatía e hipertensión, el 75% tenían neuropatía periférica clínica, el 50% arteriopatía periférica y el 33% infarto de miocardio previo.

Respecto a la neuropatía periférica es difícil distinguir si se debe a la diabetes o a la uremia; en ocasiones sólo se diferencia después de la diálisis o del trasplante.³⁴⁵ La nefropatía autónoma está presente en el 95% de estos pacientes y en ellos los síntomas de uremia se manifiestan precozmente.

Además en este período podemos encontrar anemia, alteraciones de la coagulación, que pueden condicionar la aparición de hemorragias, hipercalcemia, hipoaldosteronismo-hiporreninémico, osteodistrofia renal condicionada por el déficit de vitamina D e hiperparatiroidismo secundario y disminución de la necesidad de insulina (menor degradación renal).

Conforme se va degradando la función renal, aparecen los síntomas típicos de la uremia: letargo, náuseas, vómitos, prurito, disnea por acidosis, edema y en ocasiones convulsiones y coma. También puede desarrollarse pericarditis fibrinosa, disfunción miocárdica y sobrecarga de líquidos.¹⁰⁹

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Kimmelsteil P, Wilson C. Intercapillary lesions in glomeruli of kidney. *Am J Pathol* 1936;12: 83-98.
- ² Bell ET. Renal vascular disease in diabetes mellitus. *Diabetes* 1953; 2: 376-389.
- ³ Poulsen JE. Features to the history of diabetology. Copenhagen; Muskgaard 1982: 11-17.
- ⁴ Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney from hyperfiltration and microalbuminuria failure. *Med Clin North Am* 1988: 1465-1492.
- ⁵ Shaw JE, Zimmet PZ, McCarty D, Courten M. Type 2 diabetes worldwide according to the new clasification and criteria. *Diabetes Care* 2000; 23 (Supl 2): S5-S10.
- ⁶ Wang SWL, Head J, Stevens L, Fuller JH, and WHO Multinational Study Group. Excess mortality and its realation to hypertension and proteinuria in diabetes patients. The Who Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetes Care* 1996; 19: 305-312.
- ⁷ Mckinlay J, Marceauu L. US public health and the 21^o century: diabetes mellitus. *Lancet* 2000; 356: 757-761.
- ⁸ Bhattaacharyya SK, Else BA. Medical cost of managed care in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther* 1999; 21: 2131-2142.
- ⁹ Deckert T, Poulsen JE, Larsen M. Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age on thirty-one. I. Survival, causes of death and complications. *Diabetologia* 1978; 14: 363-370.
- ¹⁰ Estmacher PL, Root HF, Marble A. Longevity of diabetic patients in recent years. *Diabetes* 1964; 13: 373-377.
- ¹¹ Roderich P, Armitage A. renal services for people with diabetes in the UK. *Diabetes Care* 2002; 19 (suppl.4): 56-60.
- ¹² Viberti GC, Yip-Messent J, Morocutti A. Diabetic nephropathy. Future avenue. *Diabetes Care* 1992; 15: 1216-1225.
- ¹³ Goldfarb AS, Pappas L. Prediction of renal insufficiency in Pima Indians with nephropathy of type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 252-264.
- ¹⁴ Harvey JN. Diabetic nephropathy. *Br Med J* 2002; 325: 59-60.

- 15 Paterson AD, Peacock I, Morgan AG et al. Causes of death in diabetic clinic population. *Lancet* 1987; 1: 1313-1316.
- 16 Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK et al. Diabetic nephropathy in Type I (insulin dependent) diabetes. An epidemiological study. *Diabetologia* 1983; 25: 496-501.
- 17 Serrano M, Herrera JL, Escobar F. Diabetes mellitus (DM) y enfermedad cerebrovascular. *Av Diabetol* 1999; 15 (Supl 1): S25-S28.
- 18 Perez R, Rodríguez P, Dall'Anesse C, Gómez F, Valderrábano F. Preocupante incremento de la diabetes como causa de insuficiencia renal terminal. Evaluación del tratamiento renal sustitutivo. *An Med Int* 2001; 18: 171-180.
- 19 Luño J, Valderrabano F. ¿Se puede evitar la progresión de la insuficiencia renal terminal en la nefropatía diabética? *An Med Int* 1998; 15: 567-571.
- 20 Hasslacher C, Ritz E, Wahl P et al. Similar risks of nephropathy in patients with type I or type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Trasplant* 1989; 4: 859-863.
- 21 Narins BE, Narins RG. Clinical features and healthcare. Cost of diabetics nephropathy. *Diabetes Care* 1988; 11: 833-839.
- 22 Figuerola D. ¿Qué es la diabetes? En: Figuerola D, de. *Diabetes Mellitus. Guía para su conocimiento y control*. Barcelona: Salvat Editores; 1985: 1-27.
- 23 Pallardo Sánchez LF, Zurro Hernández J. Epidemiología de la diabetes. En: Cerdán Vallejo A, Jara Albarrán A, Rodríguez Miñón JL, Pallardo Sánchez LF. *Manual del Diabético*. Madrid: Ediciones CEA S.A.; 1985: 29-37.
- 24 Fabre J, Balant LP, Dayer PG et al. The kidney in maturity onset diabetes mellitus: a clinical study of 510 patients. *Kideny Int* 1982; 21: 730-738.
- 25 Panzram G. Mortality and survival in type I (non-insuline-dependent) diabetes mellitus. *Diabetología* 1987; 30: 123-131.
- 26 Esmatjes E, de Alvaro F. Incidence of diabetic nephropathy in type 1 diabetics patients in Spain. *Diabetes Res. Care Pract.* 2002; 57: 35-43.
- 27 Esmatjes E, Castell C, Goday A, et al. Prevalencia de nefropatía en la diabetes mellitus tipo I *Med Clin* 1998; 110: 6-10.

- ²⁸ Laffel LMB, Krolewki AS. Epidemiology and clinical impact of diabetes late complications in IDDM. En: Mogensen CE, Standl E, eds. Diabetes forum series: prevention and treatment of diabetic late complications. Berlin-New York: Walter de Gruyter; 1989; 2: 13-27.
- ²⁹ Borch-Johnsen K, Nissen H, Henriksen E et al. The natural history of insulin-dependent diabetes mellitus in Denmark. I. Long term survival with and without late diabetic complications. *Diabetic Med* 1987; 4: 201-207.
- ³⁰ Kofoed-Enevoldsen A, Borch-Johnsen K, Kreiner S et al. Declining incidence of persistent proteinuria in type I (insulin dependent) diabetic patients in Denmark. *Diabetes* 1987; 36: 205-209.
- ³¹ Krolewski AS, Warram JH, Rand LI et al. Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* 1987; 317: 1390-1392.
- ³² Keen H, Jarret J. Complications of diabetes. London Edward Arnold 1975; 127-129.
- ³³ Paterson AD, Peacock I, Morgan AG, Dornan TL, Burden RP, Tattersall RB. Causes of death in diabetic patients with impaired renal function. *Lancet* 1987; 1: 313-316.
- ³⁴ Ritz E, Koch M, Filser D, Schenger V. How can we improve prognosis in diabetic patients with end stage renal disease? *Diabetes Care* 1999; 22 (Supl 2): S80-S83.
- ³⁵ Tuomilhto J, Borch-Johnsen K, Molarius A, Frosén T, Rastenyte D, Santi C, et al. Incidence of cardiovascular disease in type 1 (insulin-dependent) diabetic subjects with and without diabetic nephropathy in Finland. *Diabetología* 1998; 41: 784-790.
- ³⁶ Monnier VM, Viswanath V, Frank KE et al. Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen linked fluorescence. *N Eng J Med* 1986; 314: 403-408.
- ³⁷ Borch-Johnsen K, Kreiner S. Proteinuria value as predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent diabetes mellitus. *Br Med J* 1987; 294: 1561-1564.
- ³⁸ Gómez FJ, Luño J, García S, Valderrabano F ¿Por qué es necesaria la remisión precoz a la consulta del nefrólogo de los pacientes con nefropatía diabética? *Rev Clin Esp* 1999; 199: 410-411.
- ³⁹ Renal involvement in type 1 (IDDM) diabetes in Spain. Estudio Diamante. *Diabetes Res Clin Pract* 1997; 38: 129-137.
- ⁴⁰ Schaubel DE, Morrison HI, Desmeules M, Parsons DA, Fenton SS. End-stage renal disease in Canada: prevalence projections to 2005. *Can Med Ass J* 1999; 160: 1557-1563.

-
- ⁴¹ Mac Crar Y RF, Pitts TO, Puschett JB. Diabetic nephropathy: natural course, survivorship and therapy. *Am J Nephrol* 1981; 1: 206-209.
- ⁴² Reddo AS, Camerini-Davalos RA. Diabetic nephropathy. An update. *Arch Int Med* 1990; 150: 34-43.
- ⁴³ The National Institute of Health. The National Institute of Diabetic and Digestive and Kidney Diseases. Division of Kidney, Urologic and Hematologic Diseases. Bethesda M.D. United States Renal Data System 1996. Annual Data Report 1996.
- ⁴⁴ Perneger TV, Brancati FL, Whelton PK, Klag JK. End stage renal disease attributable to diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1994; 121: 912-918.
- ⁴⁵ Goday A, Serrano Ríos M. Epidemiología de la diabetes mellitus en España. Revisión crítica y nuevas perspectivas. *Med Clin* 1994; 102: 306-315.
- ⁴⁶ Vallés M, García M. Informe anual del registro de pacientes en diálisis y trasplante en España (1085). *Nefrología* 1987; 2 (suppl. 2): 15-28.
- ⁴⁷ Vallés M, García M. Informe anual del registro de pacientes en diálisis y trasplante en España. *Nefrología* 1989; 9 (suppl. 1): 1-6.
- ⁴⁸ Rodríguez Pérez J, Pérez Borges P. Nefropatía diabética. *Med Clin* 1998; 110: 16-18.
- ⁴⁹ Goetz FC, Elick B, Fryd D et al. Renal transplantation in diabetes. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15: 807-821.
- ⁵⁰ Esmatjes A. La nefropatía diabética. Dimensión del problema en España. *Av Diabetol* 1999;15 (Supl 1): S10-S12.
- ⁵¹ Arije A, Akinsola W, Lapid G. Renal function in adult nigerian diabetics. *Trp Georg Med* 1988; 40: 334-337.
- ⁵² Ballard D, Hunphernb L, Melton LF et al. Epidemiology of persistent proteinuria en type II diabetes mellitus. Population-based study Rochester Minnesota. *Diabetes* 1988; 37: 405-412.
- ⁵³ Chung K, Kumar R, Sakhuja V et al. Nephropathy on type II diabetes mellitus in third world countries. *Int J Artif Organs* 1989; 12: 299-302.
- ⁵⁴ Nelson RG, Knowler WC, Pttit DJ et al. Diabetic kidney disease in Pima Indians. *Diabetes Care* 1993; 16: 335-341.

- ⁵⁵ Nelson RG, Knowler WC, Mc Cance DR et al. Determinants of end-stage renal disease in Pima Indians with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and proteinuria. *Diabetologia* 1993; 36: 1087-1093.
- ⁵⁶ Cowie CC. Diabetic renal disease: racial and ethnic differences from an epidemiologic perspective. *Trasplant Proc* 1993; 25: 2426-2430.
- ⁵⁷ Garancini P, Gallus G, Calori G et al. Microalbuminuria and the associated risk factors in a representative sample of italian type II diabetics. *J Diab Complic* 1988; 2: 12-15.
- ⁵⁸ Schmechel H, Heinrich U. Retinopathy and nephropathy in 772 insulin-treated diabetic patients in relation to the type of diabetes. *Diabete Metab* 1993; 19: 138-142.
- ⁵⁹ Klein R. Diabetes mellitus: Late complications oculopathy. En: De Groot LF. *Endocrinology Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1995: 1522-1535.*
- ⁶⁰ Friedman EA. Renal syndromes in diabetes. *Endocrinal. Metab. Clin North America* 1996; 25: 293.324.
- ⁶¹ Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4.400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978; 1: 168-188.
- ⁶² Tchobroytsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetología* 1978; 15: 143-152.
- ⁶³ Skyler, JS. Complicatons of diabetes mellitus: relationship to metabolic dysfunction. *Diabetes Care* 1979; 2: 499-509.
- ⁶⁴ Jennings PE, Barnett AH. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabetic Med* 1988; 5: 111-117.
- ⁶⁵ Siperstein MD, Unger RH, Madison LL. Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients. *J Clin Invest* 1968, 47: 1973-1999.
- ⁶⁶ Viberti GC, Keen H, Wiseman MJ. Raised arterial pressure in patients of proteinuric insulin dependent diabetics. *Br Med J* 1987; 295: 575-577.
- ⁶⁷ Kroleswski AS, Canesa M, Warran JH et al. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318: 140-145.
- ⁶⁸ Magili R, Bending J, Scott G et al. A marker for diabetic nephropathy: increased RBC Na⁺/Li⁺ exchanger activity. *Diabetes* 1987; 36 (Suppl. 1): 43A.

- ⁶⁹ Friedman EA. Renal syndromes in diabetes. *Endocrinol. Metab Clin North America* 1996; 25: 293-324.
- ⁷⁰ DeFronzo RA. Diabetic nephropathy: Etiologic and therapeutic considerations. *Diabetes Rev* 1995; 3: 510-564.
- ⁷¹ Trevisan R, Viberti G. Pathophysiology of diabetic nephropathy. En: Leroith D. *Diabetes mellitus*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996: 727-736.
- ⁷² Fava S, Hattersley AT. The role of genetic susceptibility in diabetic nephropathy: evidence from family studies. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002;17: 1543-1546.
- ⁷³ Weder AB. Red cell sodium-lithium countertransport and renal lithium clearance in hypertension. *N Engl J Med* 1986; 314: 198-201.
- ⁷⁴ Mangili R, Bending JJ, Scott G et al. Increased sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 1988; 318: 146-150.
- ⁷⁵ Walker JD, Tariq T, Viberti G. Sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy and their parents. *Br Med J* 1990; 301: 635-638.
- ⁷⁶ Barnett AH, Spiliopoulos AJ, Pyke DA, et al. Muscle capillary basement membrane in identical twins discordant for insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1983; 32: 557-560.
- ⁷⁷ Price DA, Crook ED. Kidney disease in african americans: genetic considerations. *J Natl Med Assoc* 2002; 94 (suppl.8): 16S-27S.
- ⁷⁸ Feingod KR, Siperstein MD. Diabetic vascular disease. *Adv Intern Med* 1986; 31: 309-340.
- ⁷⁹ Ganda OP, Williamson JR, Solederm JS, et al. Muscle capillary basement membrane width and its relationship to diabetes mellitus in monozygotic twins. *Diabetes* 1983; 32: 549-556.
- ⁸⁰ Siperstein MD. Diabetic microangiopathy, genesis, environment and treatment. *Am J Med* 1988; 85 (suppl. 5^a): 119-130.
- ⁸¹ Weatherall D, Sarvetnick N, Shirazu JA. Genetic control of diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992; 35 (suppl 2): 81-87.
- ⁸² Khoury MJ, Beaty TH, Flanders WD. Epidemiologic approaches to the use of DNA markers in the search for disease susceptibility genes. *Epidemiol Rev* 1990; 12: 41-55.

- ⁸³ Doria A, Warram JH, Krolewsky AS. Genetic predisposition to diabetic nephropathy. Evidence for a role of the angiotensin converting enzyme gene. *Diabetes* 1994; 132: 690-695.
- ⁸⁴ Marre M, Bernadet P, Gallois Y, et al. Relationship between Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes* 1994; 43: 284-338.
- ⁸⁵ Forbes JM, Cooper ME, Thallas v et al. Reduction of the accumulation of advanced glycation end products by ACE inhibitors in experimental diabetic nephropathy. *Diabetes* 2002; 51: 3274-3282.
- ⁸⁶ Barbosa J, Noreen H, Enme L, et al. Histocompatibility (HLA) antigens and diabetic microangiopathy. *Tissue Antigens* 1976; 7: 233-239.
- ⁸⁷ Parving HH, Kastrup J, Smitdt VD. Reduced trans-capillary escape of albumin during acute blood pressure lowering in type I diabetic patients with nephropathy. *Diabetologia* 1986; 28: 797-801.
- ⁸⁸ Barbosa J, Saner B. Do genetic factors play a role in the pathogenesis of diabetic microangiopathy? *Diabetologia* 1985; 27: 487-492.
- ⁸⁹ Christiansen JS, Gammelgaard J, Frandsen M, et al. Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 451-456.
- ⁹⁰ Esmatjes E, Fernández MR, Halperin I, et al. Renal haemodynamic abnormalities in patients with short-term insulin dependent mellitus: role of renal prostaglandins. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 1231-1236.
- ⁹¹ Stalder G, Schmid R. Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal haemodynamics in treated diabetes mellitus during childhood. *Am Pediatric* 1959; 193: 128-138.
- ⁹² Ditzel J, Junker K. Abnormal glomerular filtration rate, renal plasma flow and renal protein excretion in recent and short-term diabetics. *Br Med J* 1972; 2: 13-19.
- ⁹³ Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short term and long term juvenile diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28: 99-100.

-
- ⁹⁴ Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Noenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-537.
- ⁹⁵ Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al. Advance glycosylation and products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325: 836-842.
- ⁹⁶ Wiseman MJ, Andrew J, Saunders Mb. Effect of blood glucose control on increased glomerular filtration rate and kidney size in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 1985; 312: 617-619.
- ⁹⁷ Fine L. The biology of renal hypertrophy. *Kidney Int* 1986; 29: 89-93.
- ⁹⁸ Mogensen CE, Steffers MW, Deckert T, et al. Functional and morphological renal manifestations in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 21: 89-93.
- ⁹⁹ Krolewski AS, Warran JH, Freire MB. Epidemiology of late diabetic complication: A basis for the development and evaluation of prevention programs. *Endrinol Metab Clin North America* 1996: 217-242.
- ¹⁰⁰ DCCT Research Group. The effect on intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
- ¹⁰¹ Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1993; 329: 1456-1462.
- ¹⁰² Ansari A, Thomas S, Goldsmith D. Assessing glycemic control in patients with diabetes and end-stage renal failure. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 523-531.
- ¹⁰³ Remuzzi G. Abnormal protein traffic through the glomerular barrier induces proximal tubular cell dysfunction and causes renal injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995; 4: 339-342.
- ¹⁰⁴ Ruoslahti E. Proteoglycans in cell regulation. *J Biol Chem* 1989; 264: 1369-1372.
- ¹⁰⁵ Gambaro G, Baggio B. Growth factors and the kidney in diabetes. *Crit Rev Clin Lab* 1998; 34: 1-24.
- ¹⁰⁶ Warran NDP, Krolewski AS. TGF-beta 1 as a genetic susceptibility locus for advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 22-28.

- ¹⁰⁷ Fujita H, Narita T, Meguro H, Ishii Thayu O, Suzuki K, Ito S. Lack of association between the heparan sulphate proteoglycan gene polymorphism and diabetic nephropathy in Japonase NIDDM with proliferative diabetic retinopathy. *Ren Fail* 1999; 21: 659-664.
- ¹⁰⁸ Rippin JD, Patel A, Bain SC. Genetics of diabetic nephropathy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15: 345-358.
- ¹⁰⁹ Tarnow L, Rossing P, Nielsen FS, Fangerudd JA Poirier O, Parving HH. Cardiovascular morbidity and early mortality cluster in patients of type 1 diabetic patients with diabetic nephropaty. *Diabetes Care* 2000; 23: 30-33.
- ¹¹⁰ Parving HH. Renoprotection in diabetes: genetic and non-gentic risk factors and treatment. *Diabetología* 1998; 41: 745-759.
- ¹¹¹ Cooper ME. Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet* 1998; 352: 213-219.
- ¹¹² Mogensen CE. Renal functional changes in diabetes. *Diabetes* 1976; 25 (suppl 2): 872-879.
- ¹¹³ Wiseman MJ, Mangili R, Alberetto M. Mechanismos of the glomerular response to glycemic changes in insulin-dependent diabetic subjects. *Kidney Int* 1987; 31: 1012-1018.
- ¹¹⁴ Christiansen JS, Frandsen M, Parving HH. The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 199-204.
- ¹¹⁵ Mogensen CE, Christiansen NJ, Gundersen HJC. The acute effect of insulin on renal haemodynamics and protein excretion in diabetes. *Diabetologia* 1978; 15: 153-157.
- ¹¹⁶ Uitto J, Peredja A, Grant GA, et al. Glycosylation of human glomerualr basement membrane collagen: with diabetes. *Connet Tissye Res* 1982; 10: 287-296.
- ¹¹⁷ Blantz RC, Petersen OW, Gushwa L et al. Effect of modest hyperglycaemia on tubulo-glomerular feedback activity. *Kidney Int* 1982; 22 (suppl. 12): 206-212.
- ¹¹⁸ Carreras LO, Chamone DAF, Klerck P, et al. Decreased vascular prostacyclin (PG 12) in diabetics rats. Stimulation of PG 12 realease in normal and diabetic rats by the antithrombotic compound Bay g 6375. *Thromb Res* 1980; 19: 663-670.
- ¹¹⁹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane. Glucose-induced increases in renal haemodynamic function: posible modulation by renal prostaglandins. *Diabetes* 1985; 34: 360-364.

- ¹²⁰ Gilbert RE, Akdeniz A, Allen TJ, Jerumus G. Urinary transforming growth factor beta in patients with diabetes nephropathy. Implications for the pathogenesis of tubulointerstitial pathology. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2442-2443.
- ¹²¹ Reddi AS. Diabetes nephropathy. An update. *Arch Intern Med* 1990; 150: 31-43.
- ¹²² Cooper Me. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetes nephropathy. *Diabetologia* 2001; 44: 1957-1972.
- ¹²³ Christiansen JS, Gammelgaard J, Orskov H, et al. Kidney function and size in type I (insulin-dependent) diabetic patients before and during growth hormone administration for one week. *Diabetologia* 1982; 22: 333-337.
- ¹²⁴ Parving HH, Christiansen JS, Noer I, et al. The effect of glucagon infusion on kidney function in short-term insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1989; 19: 350-354.
- ¹²⁵ Wiseman MJ, Redmon H, House F, et al. The glomerular hyperfiltration of diabetes is not associated with elevated plasma levels of glucagon and growth hormone. *Diabetologia* 1985; 28: 718-721.
- ¹²⁶ Brenner BM, Hostette TH, Olson MA. The role of glomerular hyperfiltration in the initiation and progression of diabetic nephropathy. *Acta Endocrinol* 1981; 242 (suppl. 1): 7-58.
- ¹²⁷ Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1992; 41: 822-826.
- ¹²⁸ Fogo A, Ichikawa I. Evidence for the central role of glomerular growth promoters in the development of sclerosis. *Semin Nephrol* 1989; 9: 329-335.
- ¹²⁹ Barnett R, Scharschmidt L, et al. Comparison of glomerular and mesangial prostaglandin synthesis and glomerular contraction in two rat models of diabetes mellitus. *Diabetes* 1987; 36: 1468-1475.
- ¹³⁰ Hayashi M, Shietoshi D, Saito I, et al. Changes of blood pressure, urinary kalikrein and urinary prostaglandin E2 in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Arch Pharmacol* 1983; 322: 290-294.
- ¹³¹ Reineck HJ, Kreisberg J. Renal vascular response to angiotensin II in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Kidney Int* 1983; 23:267.
- ¹³² Turlapaty PDMW, Lum G, Altura BM. Vascular responsiveness and serum biochemical parameters in alloxan diabetes mellitus. *Am J Physiol* 1980; 239: 412-421.

- ¹³³ Hommel E, Mathiesen E, Edsberg B, et al. Acute reduction of arterial blood pressure reduces urinary albumin excretion in type I diabetics patients with incipient nephropathy. *Diabetologia* 1980; 29: 2211-2215.
- ¹³⁴ Zatz R, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy. The haemodynamic review. *Am J Med* 1986; 80: 443-453.
- ¹³⁵ Hosteter TH, Troy JL, Brenner BM. Glomerular haemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int* 1981; 19: 410-415.
- ¹³⁶ Ballerman BJ, Skorecki KL, Brenner BM. Reduced glomerular angiotensin II receptor density and early untreated diabetes mellitus in the rat. *Am J Physiol* 1984; 247: 110-116.
- ¹³⁷ Christieb AR. Renin, angiotensin and norepinephrine in alloxan diabetes. *Diabetes* 1974; 23: 962-970.
- ¹³⁸ Marre M, Alhenc-Gelas F, Menard J, et al. Reduction de la kallikreine urinaire chez les diabétiques hypertendus. *Arch Mal Coeur* 1986; 79: 831-834.
- ¹³⁹ Erdos EG. Kinins the long march a personal view. *Cardiovas Res* 2002; 54: 485-491.
- ¹⁴⁰ Adetuyibi A, Mills IH. Relation between urinary kallikrein and renal function hypertension and excretion of sodium and water in man. *Lancet* 1982; 2: 202-203.
- ¹⁴¹ Margolius HS, Geller R, Pisano JJ, et al. Altered urinary kallikrein excretion in human hypertension. *Lancet* 1971; 1: 1063-1065.
- ¹⁴² Pérez Blanco FJ, Cuesta López MJ, Fernández García C, et al. Calicreina renal en la nefropatía diabética. *Rev Clin Esp* 1991; 188: 123-126.
- ¹⁴³ Jones SL, Perino N, Benigni A, et al. Glomerular filtration rate (GRF) extracellular fluid volume (EFV) and atrial natriuretic factor (ANF) in insulin-dependent diabetics. *Kidney Int* 1988; 33: 268-271.
- ¹⁴⁴ Appel RG, Dunn MJ. Effect of systemic atrial natriuretic factor in rat renal papillary collecting tubule cells. *Clin Res* 1985; 33: 618.
- ¹⁴⁵ Murray RD, Itoh S, Inagamie T, et al. Effects of systemic atrial natriuretic factor in the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 1986; 249: 603-609.
- ¹⁴⁶ Ortola FV, Ballerman BJ, Anderson S, et al. Elevated plasma atrial natriuretic peptide levels in diabetic rats. *J Clin Invest* 1987; 80: 67-74.

- ¹⁴⁷ Solerte SB, Fiovaranti M, Spriano P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide renal haemodynamics and microlbuminuria in short-term type I (insulin-dependent) diabetic patients with hyperfiltration. *Diabetologia* 1987; 30: 584.
- ¹⁴⁸ Jungmann E, Graeber S, Scherberich J, et al. Zum einfluss des humanen atrialwn natriuretischen peptids auf die. Pathogenese der nephroptie bei patienten mit type I diabetes mellitus. *Med Klin* 1992; 87: 622-625.
- ¹⁴⁹ Persson P, Ehmke H, Kögler U. Modulation of natriuresis by sympathetic nerve and angiotensin II in conscious dog. *Am J Physiol* 1989; 256: F485-F489.
- ¹⁵⁰ Kirchheim HR, Ehmke H. Vasoactive hormones: modulators of renal function. *Clin Invest* 1994; 72: 685-687.
- ¹⁵¹ Brenner BM, Humes HD. Mechanisms of glomerular ultrafiltration. *N Engl J Med* 1977; 297: 148-154.
- ¹⁵² Brownlee M, Spiro RG. Glomerular basement membrane metabolism in the diabetic rats. In vivo studies. *Diabetes* 1979; 28: 121-125.
- ¹⁵³ Cohen MP, Surma ML. Renal glomerular basement membrane. In vivo biosynthesis and turnover in normal rats. *J Biol Chem* 1980; 255: 1766-1770.
- ¹⁵⁴ Cohen MP, Surma ML. Sulfate incorporation into glomerular basement membrane glycosaglycans is decreased in experimental diabetes. *J Lab Clin Med* 1981; 98: 715-722.
- ¹⁵⁵ Kanwar YS, Farquhar MG. Anionic sites in the glomerular basement membrane. *J Cell Biol* 1978; 81: 137-153.
- ¹⁵⁶ Stenberg M, Cohen-Forterre L, Peyroux J. Connective tissue in diabetes mellitus biochemical alterations of the intracellular matrix with special reference to proteoglycan, collagen and basement membranes. *Diabetes Metab* 1985; 11: 27-50.
- ¹⁵⁷ Mundy HR, Lee PR. Glycogenesis type I and diabetes mellitus: a común mechanism for renal dysfunction? *Med Hypotheses* 2002; 59: 110-114.
- ¹⁵⁸ Osterby R. A quantitative stimate of the peripheral glomerular basement membrane in recent juvenile diabetes. *Diabetologia* 1965; 1: 97-100.
- ¹⁵⁹ Kilo C, Vogler N, Williamson JR. Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus. *Diabetes* 1972; 21: 881-905.

- ¹⁶⁰ Fogo AB. Diabetic nephropathy: it's in the numbers. *Kidney Int* 2002; 61: 2274-2275.
- ¹⁶¹ Moriya T, Moriya R, Yajima Y, Steffles MW, Mauer M. Urinary albumin as an indicator of diabetic nephropathy lesions in japanese type 2 diabetic patients. *Nephron* 2002; 91: 292-299.
- ¹⁶² Engerman R, Bloodworth JM JR, Nelson S. Relationship of microvascular disease in diabetes to metabolic control. *Diabetes* 1977; 26: 760-769.
- ¹⁶³ Altiparmak MR, Pamuk ON, Pamuk GE, Apaydin S, Ozbay G. Diffuse diabetes glomerulosclerosis in a patients with impaired glucose tolerance. *Neth J Med* 2002; 60: 260-262.
- ¹⁶⁴ Mauer SM, Steffes MW, Brown DM. Animal models of diabetes nephropathy. *Adv Nephrol* 1979; 8: 23-42.
- ¹⁶⁵ Steffers MW, Mauer SM. Diabetic glomerulopathy in man and experimental animal models. *Int Rev Exp Pathol* 1984; 26: 147-175.
- ¹⁶⁶ Fox CJ, Darby SC, Ireland JT, et al. Blood glucose control and glomerular capillary basement membrane thickening in experimental diabetes. *Br Med J* 1977; 2: 606-607.
- ¹⁶⁷ Petersen J, Ross J, Rabkin E. Effect of insulin therapy on established diabetic nephropathy in rats. *Diabetes* 1988; 37: 1346-1350.
- ¹⁶⁸ Land DW, Landgraf WD, Illner R, et al. Improved results in combined segmental pancreatic and renal transplantation in diabetic patients under cyclosporine therapy. *Transplantation Proceedings* 1985; 17: 317-324.
- ¹⁶⁹ Lee CE, Mauer SM, Brown DM, et al. Renal Transplantation in diabetes mellitus in rats. *J Exp Med* 1974; 139: 793-800.
- ¹⁷⁰ Abouna GM, Al-Adnani MS, Kremer GD, et al. Revesal of diabetic nephropathy in human cadaveric kidneys after transplatation into non diabetic recipients. *Lancet* 1988; 2: 1274-1276.
- ¹⁷¹ Mauer SM, Barbosa J, Vernier RL, et al. Development of diabetic vascular lesions in normal kidneys transplanted into patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976; 295: 916-920.
- ¹⁷² Kroc Collaborative studt Group. Blood glucose control and evolution of diabetic retinopathy and albuminuria: a preliminary multicenter trial. *N Engl J Med* 1985; 311: 365-372.

- ¹⁷³ DCCT Research Group. The diabetes Control and complications trial (DCCT): design and methodologic consideration for the feasibility phase. *Diabetes* 1986; 35: 530-545.
- ¹⁷⁴ DCCT Research Group. Diabetes Control and complication trial (DCCT): results of feasibility study. *Diabetes Care* 1987; 10: 1-9.
- ¹⁷⁵ DCCT Research Group. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) update. *Diabetes Care* 1990; 13: 427-433.
- ¹⁷⁶ DCCT Research Group. The effect on intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
- ¹⁷⁷ Barbes AJ, Locke P, Scudder PR, et al. Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculator disease? *Lancet* 1977; 2: 789-791.
- ¹⁷⁸ McMillan D. The effect of diabetes on blood flow properties. *Diabetes*; 32 (suppl 2) 56-63.
- ¹⁷⁹ Colwell JA, Winocour PD, Halushkqa PV. Do platelet have anything to do with diabetic microvascular disease. *Diabetes* 1983; 32 (suppl 2): 14-18.
- ¹⁸⁰ Mustard JF, Packham MA. Platelets and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1984; 311: 665-667.
- ¹⁸¹ Barnett AH, Leatherdale BA, Polak A, et al. Specific thromboxane synthetase inhibition and albumin excretion rate in insulin dependent diabetes. *Lancet* 1984; 1: 1322-1324.
- ¹⁸² Opatrany K, Zemanova P, Mares J. Fibrinolysis defect in long term hemodialysis patients with type 2 diabetes mellitus and its relation to metabolic disorders. *Am J Nephrol* 2002; 22: 429-436.
- ¹⁸³ Donadio JV, Duane M, Ilstrup MS, et al. Platelet-inhibitor treatment of diabetic nephropathy: a 10 year prospective study. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 3-15.
- ¹⁸⁴ Porta M, Townsend C, Clover GM, et al. Evidence for funtional endothelium cell damage in early diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1981; 20: 597-601.
- ¹⁸⁵ Hanssen KF, Dahl-Jorgensen K, Lauritzan, et al. Diabetic Control and microvascular complications: the near normoglycemic experience. *Diabetologia* 1986: 29: 677-684.

- ¹⁸⁶ Striker GE, Algodoa LL, Herd P, Doi T, Conti F, Strike. Kidney disease of diabetes mellitus (diabetic nephropathy): perspectives in the United States. *Diabetes Complications* 1991; 5: 51-52.
- ¹⁸⁷ Pastan S, Bailey J. Dialysis therapy. *N Engl J Med* 1998; 338: 1428-1437.
- ¹⁸⁸ Fernández J. Retinopatía diabética. *Av Diabetol* 1999; 15 (Supl 1): S13-S14.
- ¹⁸⁹ Perez R, Rodríguez P, Dall'Anesse C, Gómez F, Valderrábano F. Preocupante incremento de la diabetes como causa de insuficiencia renal terminal. Evaluación del tratamiento renal sustitutivo. *An Med Int* 2001; 18: 171-180.
- ¹⁹⁰ The EUCLID Study Group. Randomised placebo-controlled trial of lisinopril in normotensive patients with insulin-dependent diabetes and normoalbuminuria or microalbuminuria. *Lancet* 1997; 349: 1787-1792.
- ¹⁹¹ Cabezas J. Neuropatía diabética. En: Jara Albarrán A, editor. *Endocrinología*. Madrid: Medica Panamericana; 2001: 505-518.
- ¹⁹² Ibrahim HA, Vora IP. Diabetic nephropathy. *Ballieres Clin Endocrinol Metab* 1999; 13: 239-264.
- ¹⁹³ Odón G, Ritz E. Diabetic nephropathy. What have we learned in the last three decades? *J Nephrol* 1999; 12 (Supl 2): S120-S124.
- ¹⁹⁴ Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA, Leichtman AB, Agodoa LY, Port FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int* 2000; 57: 307-313.
- ¹⁹⁵ Ebara T, Conde K, Kako Y, Liu Y, Xu Y, Ramakrishnan R, et al. Delayed catabolism of apoB-48 lipoproteins due decreased heparan sulfate proteoglycan production in diabetic mice. *J Clin Invest* 2000; 105: 1807-1818.
- ¹⁹⁶ Parthasarathy N, Gotow LF, Bottoms JD, Obunike JC, Naggi A, Casu B, et al. Influence of glucose on production and N-sulfation of heparan sulfate in cultured adipocyte cells. *Moll Cell Biochem* 2000; 213: 1-9.
- ¹⁹⁷ Mascia F, Paoletti P, Mamusa AM, Cirillo Rmarongu F. Dermatan sulphate, heparin cofactor II, and F1+2 peptide in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Thromb Res* 2000; 15: 263-265.
- ¹⁹⁸ Colwell JA. Vascular thrombosis in type II diabetes mellitus. *Diabetes* 1993; 42: 8-11.

- ¹⁹⁹ Harris KH, Macleod KM. Influence of the endothelium on contractile responses of arteries from diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 1988; 153: 55-64.
- ²⁰⁰ Yano Y, Kitagawa N, Gabazza EC, Morioka K. Increased plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitors levels in normotensive type 2 diabetic patients with microalbuminuria. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 736-741.
- ²⁰¹ Rubanyi GM. Endothelium-derived vasoactive factors in health and disease, en Rubanyi GM de Cardiovascular significance of endothelium-derived vasoactive factors. Nueva York; 1991: 11-14.
- ²⁰² Cohen RA, Weisbrod RM. Endothelium inhibits norepinephrine release from adrenergic nerves of rabbit carotid artery. *Am J Physiol* 1988; 254: 871-878.
- ²⁰³ Mulhern M, Docherty JR. Effects of experimental diabetes on the responsiveness of rat aorta. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 1007-1012.
- ²⁰⁴ Palmer RM, Ferrige AG, Moncada. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-526.
- ²⁰⁵ Ignarro LJ. Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension* 1990; 16: 477-483.
- ²⁰⁶ Salazar F, Pinilla JM, López F, et al. Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992; 20: 113-117.
- ²⁰⁷ Salom MG, Lahera V, Romero JC. Role of prostaglandins and endothelium-derived relaxing factor on the renal response to acetylcholine. *Am J Physiol* 1991; 269: 145-149.
- ²⁰⁸ Schultz P, Schoerer AE, Rij L. Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am J Physiol* 1990; 258: 162-167.
- ²⁰⁹ Wallace P, Calver A, Collier J. The vascular endothelium in diabetes and hypertension. *J Human Hypertens* 1992; 10 (suppl 1): 525-529.
- ²¹⁰ Corbett JA, Tilton RG, Chang K, et al. Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes* 1992; 41: 552-556.
- ²¹¹ Marín J, Sánchez-Ferrer CF. Role of endothelium-formed nitric oxide on vascular responses. *Gen Pharmacol* 1990; 21: 575-587.

- ²¹² Kamata K, Miyata N, Kasuga Y. Impairment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 614-618.
- ²¹³ Palmer RM, Rees DD, Ashton DS. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys. Res Commun* 1988; 153: 1251-1256.
- ²¹⁴ Calver A, Collier J, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1992; 90: 2548-2554.
- ²¹⁵ Brennan GM, McVeigh GE, Johnston GD, et al. Impaired endothelium-dependent and independent responses in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Br J Clin Pharmacol* 1991; 32: 648.
- ²¹⁶ Sáez de Tejada I, Goldstein I, Azadzi K, et al. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med* 1989; 320: 1025-1030.
- ²¹⁷ Gupta S, Sussman I, McArthur CS, et al. Endothelium-dependent inhibition of Na^+/K^+ ATPase activity in rabbit aorta by hyperglucemia. *J Clin Invest* 1992; 90: 727-732.
- ²¹⁸ Bunting S, Gryglewski RJ, Moncada S, et al. Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* 1979; 12: 897-913.
- ²¹⁹ Harrison HE, Reece AH, Johnson M. Decrease vascular prostacyclin in experimental diabetes. *Life Sci* 1978; 23: 351-356.
- ²²⁰ Myers TO, Messina EJ, Rodríguez AM, et al. Altered aortic and cremaster muscle prostaglandin synthesis in diabetic rats. *Am J Physiol* 1985; 249: 374-379.
- ²²¹ Silberbauer K, Scherthaner G, Sinzinger H, et al. Decreased vascular prostacyclin in juvenile-onset diabetes. *N Engl J Med* 1979; 300: 366-367.
- ²²² Agrawal DK, Bhimji S, McNeill JH. Effect of chronic experimental diabetes on vascular smooth muscle function in rabbit carotid artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 9: 584-593.
- ²²³ Ziboh VA, Maruta H, Lord J, et al. Increased biosynthesis of thromboxane A_2 by diabetic platelets. *Eur J Clin Invest* 1979; 9: 223-228.

- ²²⁴ Tesfamarian B, Brown ML, Deykin D, et al. Elevated glucose promotes generation of endothelium derived vasoconstrictor prostanoids rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 85: 929-936.
- ²²⁵ Butkus A, Shiney EK, Schumacher OP. Thromboxane biosynthesis in platelets of diabetic and coronary artery disease patients. *Artery* 1982; 11: 238-251.
- ²²⁶ Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogatsa G, et al. Influence of experimental diabetes on the mechanical responses of coronary arteries: role of endothelium. *Cardiovasc Res* 1988; 22: 537-544.
- ²²⁷ Haluska PV, Rogers RC, Loadholt CB, et al. Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1981; 97: 87-96.
- ²²⁸ Ylikurkala O, Kaila J, Viinikka L. Prostacyclin and thromboxane in diabetes. *Br Med J* 1981; 283: 1148-1150.
- ²²⁹ Roth DM, Reibel DK, Lefer AM. Vascular responsiveness and eicosanoid production in diabetic rats. *Diabetologia* 1983; 24: 372-376.
- ²³⁰ Kontessis PS, Jones JL, Barrow SE, et al. Effect of selective inhibition of thromboxane synthesis on renal function in diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 415-423.
- ²³¹ Craven PA, Melhem MF, Rubertis FR. Thromboxane in the pathogenesis of glomerular injury in diabetes. *Kidney Int* 1992; 42 (suppl 4): 937-946.
- ²³² Hattori Y, Kasai K, Nakamura T, et al. Effect of glucose and insuline immunoreactive endothelium release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Metabolism* 1991; 40: 164-169.
- ²³³ Takahashi K, Ghatei MC, Lam HC, et al. Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 306-310.
- ²³⁴ Krämer BK, Ackermann M, Kohler SM, Riegger GA. Role of endothelin in hypertension. *Clin Invest* 1994; 72: 88-93.
- ²³⁵ Collier A, Leach JP, McLellan AM, et al. Plasma endothelinlike immunoreactivity levels in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 1992; 15: 1038-1040.
- ²³⁶ Fukui M, Nakamura T, Ebihara I, et al. Gene expression for endotheliums and their receptors in glomeruli of diabetic rats. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 149-156.

- ²³⁷ Mogensen CE. Microalbuminuria, blood pressure and diabetic renal disease: origin and development of ideas. *Diabetología* 1999; 42: 263-285.
- ²³⁸ Martínez-Castelao A, Martín AL, De Alvaro F. El riñón en las enfermedades metabólicas. Nefropatía diabética. En: Hernando Avendaño L, Aljarna P, Arias M, Caramelo C, Egido J, Lamas S, editores. *Nefrología clínica*. Madrid: Medica Panamericana; 1997: 294-310.
- ²³⁹ Don BR, Schambelan M. Diabetes, dietary protein and glomerular hyperfiltration. *West J Med* 1987; 147: 449-455.
- ²⁴⁰ Mogensen CE. Kidney function and glomerular permeability to macromolecules in early juvenile diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28: 91-99.
- ²⁴¹ Mogensen CE, Andersen MJF. Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 1973; 22: 706-709.
- ²⁴² Sandahl-Christiansen J, Gammelgaard J, Frandsen M, et al. Increased kidney size glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetics. *Diabetologia* 1981; 20: 451-457.
- ²⁴³ Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in normal and diabetic man during elevation of blood sugar levels. *Scand. J Clin Lab Invest* 1971; 28: 177-181.
- ²⁴⁴ Sandahl-Christiansen F, Frandsen M, Parving HH. The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 199-203.
- ²⁴⁵ Altura BM, Halevy S, Turlapaty PDMV. Vascular smooth muscle in diabetes and its influence on the reactivity of blood vessels. *Adv Microcir* 1979; 8: 118.
- ²⁴⁶ Jeremy JY, Mikhaitidis DP, Dandona P. Simulation the diabetic environment modifies in vitro prostacyclin synthesis. *Diabetes* 1983; 32: 217-222.
- ²⁴⁷ Koch-Jensen P, Steven K, Sandahl-Christiansen J, et al. The effect of indomethacin on glomerular hemodynamics in experimental diabetes. *Clin Res* 1983; 31: 431.
- ²⁴⁸ Schambelan M, Blake S, Nirex MP, et al. Prostaglandin production is increased in glomeruli isolated from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Clin Res* 1983; 31: 440.
- ²⁴⁹ Vázquez JJ, García AM. Relation of kidney function in early juvenile diabetes. *Diabetologia* 1981; 21: 363.

- ²⁵⁰ Nyberg G, Granerus G, Aurell M. Renal extraction ratios for ⁵¹Cr-EDTA, PAH and glucose in early insulin-dependent diabetics patients. *Kidney Int* 1982; 21: 706.
- ²⁵¹ Kroustrup JP, Gundersen KJG, Osterby R. Glomerular size and structure in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1977; 13: 207-211.
- ²⁵² Osterby R, Gundersen HJG. Fast accumulation of basement membrane material and the rate of morphological changes in acute experimental diabetic glomerular hypertrophy. *Diabetologia* 1980; 18: 493-497.
- ²⁵³ Jirose K, Tsuchida H, Osterby R, et al. A strong correlation between glomerular filtration rate and filtration surface in diabetic kidney hyperfunction. *Lab Investigation* 1980; 43: 434-439.
- ²⁵⁴ Gartner K. Glomerular hyperfiltration during the onset of diabetes mellitus in two strains of diabetic mice. *Diabetologia* 1978; 2: 12-15.
- ²⁵⁵ Koch-Jensen P, Christiansen JS, Stevens K, et al. Renal function in diabetics rats. *Acta Endocrinol* 1981; 97 (suppl 242): 25-53.
- ²⁵⁶ Ireland JT, Grefell A. Nefropatía diabética. En: Besser GM, Godansky HJ, Cudword AG (eds) *Diabetes Clínica II*. Barcelona: Ancora; 1990: 1-18.
- ²⁵⁷ Berg UB, Torbjørnsdotter TB, Jaremko G, Thalme B. Kidney morphological changes in relation to long-term renal function and metabolic control en adolescents with IDDM. *Diabetología* 1998; 41: 1047-1056.
- ²⁵⁸ Viberti GC, Pickup JC, Jarrett RJ et al. Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and B₂-microglobulin in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 1979; 300: 638-641.
- ²⁵⁹ Vittinghus E, Mogensen CE. Graded exercise and protein excretion in diabetic man and the effect of insulin treatment. *Kidney Int* 1982; 21: 775-777.
- ²⁶⁰ Viberti GC. Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1979; 12: 47-53.
- ²⁶¹ Deen WM, Salvat B. Determinants of the glomerular filtration of proteins. *Am J Physic* 1981; 214: 162-170.
- ²⁶² Myers BD, Winetx JA, Chui F et al. Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int* 1982; 21: 633-639.

- ²⁶³ Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD. Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *N Engl J Med* 1978; 298: 826-833.
- ²⁶⁴ Brenner BM, Bohrer MP, Baylis C et al. Determinants of glomerular permselectivity: Insights derived from observations in vivo. *Kidney Int* 1977; 12: 229-232.
- ²⁶⁵ Wesson LG. *Physiology of the human kidney*. New York: Grue & Stratton; 1969.
- ²⁶⁶ Viberti GC, Wiseman MJ. The kidney in diabetes: significance of the early abnormalities. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15: 753-782.
- ²⁶⁷ Mogensen CE. Maximum tubular reabsorption capacity for glucose and renal hemodynamics during rapid hypertonic glucosa in normal and diabetic subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28: 101-104.
- ²⁶⁸ Carney SL, Wong NLM, Dirks JH. Acute effects of streptozotocin diabetes on rat renal function. *J Clin Lab Med* 1979; 93: 950-955.
- ²⁶⁹ Parving HH, Osterby R, Anderson PW, Iliueh W. Diabetic nephropathy. En: *The Kidnev*. 5th Ed. Brenner BM (ed.). Philadelphia: Saunders; 1996: 1864-1892.
- ²⁷⁰ Gatling W. What is microproteinuria? *Pract Diabets* 1985; 2: 1719.
- ²⁷¹ Parving HH. Impact of blood pressure and antihypertensive treatment on incipient and overt nepropathy, retinopathy and endothelial permeability in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1991; 4: 260-269.
- ²⁷² Perelstein EM, Grunfield BG, Simsolo Rb et al. Renal functional reserve compared in haemolytic uraemic and single. *Arch Dis Child* 1990; 62: 728-731.
- ²⁷³ Oren S, Vishoper JR, Ilan S et al. Urinary albumin excretin in patients with familial Mediterranean fever: a pilot study. *Am J Med Sci* 1991; 30: 375-378.
- ²⁷⁴ Chen YT. Type I glycogen storage disease: kidney involvement pathogenesis and its treatment. *Pediatr Nephrol* 1991; 5 (suppl 1): 71-76.
- ²⁷⁵ Mwankwo MU, Bunker CH, Ukoli FA et al. Blood pressure and other cardiovascular disease risk factors in black adults with sickle cell trait on glucosaphosphate dehydrogenase deficiency. *Genet Epidemiol* 1990; 7: 21-26.
- ²⁷⁶ Mykkanen L, Steven M, Haffner J et al. Microalbuminuria precedes the development of NIDDM. *Diabetes* 1990; 39: 235-239.

- ²⁷⁷ Haffner SM, González C, Valdez RA, et al. Is microalbuminuria part of the prediabetic state? *Diabetologia* 1993; 36: 1002-1006.
- ²⁷⁸ Nelson RG, Kunzelman CL, Pettit DJ, et al. Albuminuria en type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Pima indians. *Diabetologia* 1989; 32: 870-876.
- ²⁷⁹ Mogensen CE, Christiansen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311: 89-93.
- ²⁸⁰ Tsakanabdrus C, Terri J, Richard E, et al. Progressive decline in renal function in diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetes* 1994; 43: 649-655.
- ²⁸¹ Mogensen CE, Hansen KW, Osterby R, et al. Blood pressure elevation versus abnormal albuminuria in the genesis and the prediction of renal disease in diabetes. *Diabetes Care* 1992; 12: 1192-1204.
- ²⁸² Abbot KC, Sanders LR, Backria GL. Microalbuminurua in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Implications for renal survival. *Arch Intern Med* 1994; 24: 146-153.
- ²⁸³ First de Sloane MR, Pesce AJ, Pollack VE. Albumin excretion by the kidney. The effects of volume expansion. *J Lab Clin Med* 1977; 89: 25-29.
- ²⁸⁴ Parving HH, Viberti GC, Keen H, et al. Haemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Diabete Metab* 1983; 32: 943-949.
- ²⁸⁵ Norgaad K, Jensen T, Feldt-Rasmussen B. Transcapillary escape rate of albumin in hypertensive patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; 36: 57-61.
- ²⁸⁶ Decker T, Feldt-Rasmussen B, Mathiesen BR, et al. Pathogenesis of incipient nephropathy a hypothesis. *Diab Nephropathy* 1984; 3: 83-88.
- ²⁸⁷ Viberti GC, Jarret RJ, McCartney M, et al. Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects. *Diabetologia* 1978; 14: 293-300.
- ²⁸⁸ Viberti GC, Keen H. The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 73: 686-692.
- ²⁸⁹ Mogensen CE. Microalbuminuria as predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1987; 31: 673-689.

- ²⁹⁰ Chesham J, Anderton SW, Kingdon CFM. Rapid competitive enzyme immunoassay for albumin in urine. *Clin Chem* 1986; 32: 669-704.
- ²⁹¹ Dezier JF, Calen P. Evaluation d'un test qualitatif pour la mise evidence d'une microlabuminurie. *Pathol Biol* 1989; 37: 77-80.
- ²⁹² Massoubre C, Orsonnedu JL, Massoubre B, et al. Microalbuminurie: evaluation d'une methode immunoturbidimetrique et d'une methode immunonephelmetrique. *Ann Biol Clin* 1989; 47: 391-395.
- ²⁹³ Phillipou G, James SK, Seaborn CJ, et al. Screanning for microalbuminuria by use of a rapid, low-cost colometric assay. *Clin Chem* 1989; 35: 456-458.
- ²⁹⁴ Sawicki Pt, Heneman L, Berger M. Comparation of methods for microalbuminuria in diabetic patients. *Diabetic Med* 1989; 65: 412-415.
- ²⁹⁵ Tai J, Tzae WJ. Evaluation of Micro-Bumintest reagent tablest for screening of microalbuminuria. *Diabetes Res Clin Pract* 1990; 9: 137-142.
- ²⁹⁶ Watts GF, Hodgson B, Morris RW, et al. Side-room test to screen for microalbuminuria in diabetes mellitus. *Diabetic Med* 1988; 5: 298-303.
- ²⁹⁷ Mattcok MB, Morris NJ, Viberti GC, et al. Prospective study of microalbuminuria as predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes* 1992; 41: 735-741.
- ²⁹⁸ Mathiesen ER, Hommel E, Giese J, et al. Efficacy of captopril in postponing nephropathy in normotensive insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Br Med J* 1991; 303: 81-87.
- ²⁹⁹ Borch-Johnsen K. Epidemiology of microangiopathy in type I diabetes mellitus. *Diabete Metab* 1993; 19: 133-137.
- ³⁰⁰ Borch-Johnsen K, Wenzel H, Viberti CG, et al. Is screening and intervention for albuminuria worthshile in patients with insulin-dependent diabetes? *Br Med J* 1993; 307: 543.
- ³⁰¹ Grenfell A, Watkins PJ. Clinical diabetic nephropathy natural history and complications. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15: 783-805.
- ³⁰² Venkatechalm MA, Rennke HG. The structural and molecular basis of glomerular filtration. *Circ Rev* 1978; 43: 337-347.

- ³⁰³ Winetz JA, Golbetz HV, Spencer RJ, et al. Glomerular function in advanced human diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1982; 21: 750-752.
- ³⁰⁴ Gundersen KJG, Osterby R. Glomerular size and structure in diabetes mellitus I. Late abnormalities. *Diabetologia* 1976; 13: 43-46.
- ³⁰⁵ Mauer SM, Steffes MW, Brown DM. The kidney in diabetes. *Am J Med* 1981; 70: 603-606.
- ³⁰⁶ Goldstein HH. The problem of end-stage diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1974; 6 (suppl 1): 21-23.
- ³⁰⁷ Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, et al. Structural-functional relationship in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74: 1143-1155.
- ³⁰⁸ Deckert T, Grenfell. Epidemiology and natural history of diabetes-nephropathy. En: *Pickup J Textbook of Diabetes Blackwell Sci Publ* 1991: 651-657.
- ³⁰⁹ Mogensen CE. Progression of nephropathy in long-term diabetes with proteinuria and effect of initial antihypertensive treatment. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 383-387.
- ³¹⁰ Farquhar MG. The glomerular basement membrane: a selective macromolecular filter. In *Hay. De. De. Cell Biology of Extracellular matrix*. New York: Plenum Press; 1982: 335-378.
- ³¹¹ Klahrs S, Buerkert J, Purkerson ML. Role of dietary factors in the progression of chronic renal disease. *Kidney Int* 1983; 24: 579-583.
- ³¹² Cohen AH, Mampaso F, Zamponi L. Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. An ultrastructural study. *Lab Invest* 1977; 37: 40-45.
- ³¹³ Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al. Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1986; 229: 634-639.
- ³¹⁴ Vidal P, Deckert T, Andreassen H, et al. Loss of charge selectivity, non pore size, accompanies microalbuminuria in diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1992; 35 (suppl 1): 144.
- ³¹⁵ Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Vidal P et al. Size and charge selectivity of glomerular filtration in type I (insulin-dependent) diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetologia* 1993; 36: 344-351.
- ³¹⁶ Xu X, Wu Z, Zhou Q, Zhang Y, Wu D. The role of determining the levels of serum collagen type IV in diagnosing early diabetic nephropathy. *Re. Fail.* 2002; 24: 747-753.

- ³¹⁷ Parthasarathy N, Spiro RG. Effect of diabetes on the glycosaminoglycan component of the human glomerular basement membrane. *Diabetes* 1982; 31: 738-742.
- ³¹⁸ Hsueh WA, Anderson PW. Hypertension, the endothelial cell, and the vascular complications of diabetes mellitus. *Hypertension* 1992; 20: 253-263.
- ³¹⁹ Parving HH, Smidt UM, Friisberg G et al. A prospective study of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1981; 20: 457-462.
- ³²⁰ Ritz E, Hasslacher C. Genesis and treatment of hypertension in diabetes mellitus. *Diab Nephropathy* 1984; 3: 2-9.
- ³²¹ Axelrod L. Response of congestive heart failure to correction of hyperglucemia in the presence of diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1975; 293: 1243-1246.
- ³²² Morcos M, Sayed AA, Bierhaus A, Yand B. Activation of tubular epithelial cells in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2002; 51: 3532-3544.
- ³²³ Ullrich KJ, Rumrich G, Kloss G. Specificity and sodium dependence of the active sugar transport in the proximal convolution of the rat kidney. *Pfluegers Arch* 1974; 351: 35-38.
- ³²⁴ De Fronzo RA. The effect of insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia* 1981; 21: 165-169.
- ³²⁵ Ditzel J, Lervang HH, Mortensen JB, et al. Renal sodium metabolism in relation to hypertension in diabetes. *Diabete Metab* 1989; 15: 292-295.
- ³²⁶ Nosadini R, Fioretto P, Giorato C, et al. Sodium metabolism in insulin-dependent diabetic patients. *Diabete Metab* 1989; 15: 301-305.
- ³²⁷ Hsueh WA, Anderson PW. Systemic hypertension and the renin-angiotensin system in diabetic vascular complications. *Am J Cardiol* 1993; 72: 14-21.
- ³²⁸ Altman JJ, Elian N, Grun S, Gerard HG, Feldman S. The outcome of advanced chronic nephropathy in type 1 and type 2 diabetic and nondiabetic patients: a prospective study. *Diabetes Metab* 1999; 25: 144-149.
- ³²⁹ Rose BD. Pathophysiology of uremia. En *Pathophysiology of Renal Disease*. New York: McGraw-Hill; 1981: 445-459.

- ³³⁰ García-Mayor R, Moreiras M, Batista J, et al. Prevalencia de nefropatía diabética e insuficiencia renal en diabéticos tipo II. *Av Diabetol* 1991; 4: 73-77.
- ³³¹ Jude EB, Anderson SG, Cruickshank JK, Srivatsa A. Natural history and prognostic factors of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *AQM* 2002; 95: 371-377.
- ³³² Esmatjes E, Gutiérrez A, Goday A, et al. Historia natural de la nefropatía en la diabetes mellitus tipo I. *Med Clin* 1988; 90: 47-49.
- ³³³ Mogensen CE. Hypertension in diabetes and the stages of diabetic nephropathy. *Diab Nephropathy* 1982; 1: 2-7.
- ³³⁴ Kikkawara R, Koya D, Hanera M, Progression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003; 3 (suppl.2): S19-S21.
- ³³⁵ Mogensen CE, Christiansen CK, Vittinghus E et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient nephropathy. *Diabetes* 1983; 32 (suppl 2): 64-78.
- ³³⁶ Christiansen JS, Frandsen N, Sredensen PA, et al. Rapid changes in kidney function in diabetic and normal man. *Acta Endocrinol* 1981; 242: 11-21.
- ³³⁷ Mogensen CE. Early glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetics and late nephropathy. *Scan J Clin Lab Invest* 1986; 46: 201-206.
- ³³⁸ Coppo R, Amore A, Roccatello D, et al. A solid phase enzyme immunoassay for the measurement of urinary albumin and the detection of microalbuminuria. *J Diabetic Complications* 1987; 1: 58-67.
- ³³⁹ Kussam MJ, Goldstein MM, Gleason RE. The clinical course of diabetic nephropathy. *JAMA* 1976; 236: 1861-1863.
- ³⁴⁰ Jones RH, Hayakawa H, McKay JD, et al. Progression of diabetic nephropathy. *Lancet* 1979; 2: 1105.
- ³⁴¹ Viberti GC, Biulus RW, Mackintosh D, et al. Monitoring glomerular function in diabetic nephropathy. *Am J Med* 1983; 74: 256-261.
- ³⁴² Hasslacher C, Stech W, Wahl P, et al. Normal history of nephropathy in type I diabetes-roles of metabolic control and hypertension. *Ann Mtg Am Soc Nephrol* 1983; 29.

- ³⁴³ Viberti GC, Mogensen CE, Groop LC, et al. Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *JAMA* 1994; 271: 275-279.
- ³⁴⁴ Legrain M, Rottembourg J, Bentchikow A, et al. Dialysis treatment of insulin dependent diabetic patients. *Clin Nephrol* 1984; 21: 72-76.
- ³⁴⁵ D'Elia JA, Kaldani A, Millaer DG, et al. Nefropatía diabética. En: Marble A, Krall P, Bradley RF, Christiev AR, Soelner JS, eds *Joslin diabetes mellitus*. XII ed Buenos Aires: Intermédica; 1990: 30: 613-640.

Enzimas y NAG

I. ENZIMAS URINARIOS: N-ACETIL BETA GLUCOSAMINIDASA

A. INTRODUCCIÓN

En la materia dotada de vida, tienen lugar reacciones químicas de una manera ininterrumpida. Desde este punto de vista, la vida consiste en una secuencia integrada de reacciones químicas. Ahora bien, tales reacciones se efectúan en los seres vivos, generalmente entre los 0° C y los 50° C, temperaturas en las que la mayoría de las reacciones que acontecen tanto en la química inorgánica como en la orgánica se realizan a una velocidad mínima, en ocasiones inapreciable.

En los seres vivos, tales transformaciones ocurren a mayor velocidad y suavidad, (aparte de con mayor especificidad) gracias a la colaboración de los “enzimas”. Por tanto, desde el punto de vista bioquímico, la vida consiste en una secuencia ordenada de reacciones químicas catalizadas por los enzimas.

Se encuentran presentes en toda clase de células, unas veces con carácter general y otras de forma selectiva en determinados órganos. En algunos casos, la distribución de ciertos enzimas es restringida.

Su distribución en la célula coincide con la de su substrato respectivo. De una forma perfectamente ordenada, dicho enzima actuará sobre su correspondiente substrato, originando un producto que a su vez constituye el substrato de la siguiente reacción. De esa manera, se constituye, en muchos casos, una cadena de reacciones integradas en un todo armónico en condiciones normales.

Si se careciese de tal enzima, en la célula se acumularía esa substancia pudiendo ocasionar un trastorno, aunque lo natural sea tender a eliminarla.

Se ha calculado que las células podrían contener un número de enzimas superior al millar, sin que posiblemente rebase la cifra de diez millares. Actualmente se considera que una proporción bastante elevada de las proteínas celulares está constituida por proteínas enzimáticas, siendo las restantes proteínas de tipo estructural.

La distribución de los enzimas es muy amplia: unas veces son segregados al exterior de la célula, en forma soluble, facilitando los procesos digestivos. Pero lo más frecuente es que se les localice en el interior de las células, ya sea sin vincularse a

ninguna estructura subcelular o por el contrario, asociados a estructuras de membranas, mitocondrias, lisosomas o al núcleo celular como se detalla en la Tabla I.

Tabla I

Localización de algunos enzimas en fracciones subcelulares

NÚCLEO	DNA Sintetasa RNA Polimerasa
MEMBRANA PLASMÁTICA	Fosfatasa Alcalina ATP-Asa 5-Nucleotidasa Adenilciclase
MICROSOMAS	Glucosa-6-fosfatasa Enzimas que intervienen en la síntesis de proteínas
LISOSOMAS	Alfaglicosidasa Betaglicosidasa Alfagalactosidasa N-Acetil-Beta-Glucosaminidasa Lisozima Fosfatasa Ácida
MITOCONDRIAS	Succinato Deshidrogenasa Enzimas del Ciclo de Krebs Oxidación de Ácidos Grasos

Desde el punto de vista de aplicación a la enzimología clínica, tiene gran importancia conocer la distribución de algunos enzimas en ciertos órganos y tejidos. Si un enzima se halla de modo exclusivo o al menos preferentemente en un órgano o tejido y resulta fácil su valoración, se convierte en lo denominado “**enzima marcador**”. Aún podemos matizar más este aspecto en el análisis que corresponde a la distribución de los llamados “**isoenzimas**” (formas moleculares de un mismo enzima) en órganos y tejidos de la especie humana.

De lo referido anteriormente se deduce que, salvo enzimas como los de carácter digestivo, que son segregados y actúan fuera de la célula, los restantes enzimas se hallan mayoritariamente en el interior de la célula o formando parte de su membrana. En las determinaciones que se realizan en *enzimología clínica*, no es necesario utilizar

un fragmento de hígado o de páncreas, sino que se extraen simplemente unos mililitros de sangre y después se realiza la valoración en plasma o en suero.

La actividad enzimática existe en otros fluidos además de en el suero, como la orina por ejemplo. Aunque la presencia de actividad enzimática en la orina se conoce desde hace más de 150 años, su determinación en relación con los estados de salud y enfermedad ha sido motivo de impacto en la medicina experimental y clínica en las últimas décadas.

Los estudios epidemiológicos de las enfermedades nefrourológicas se hallan limitados debido a la escasa sensibilidad y especificidad de los métodos que se utilizan actualmente. La determinación de la proteinuria se ve enmascarada por la elevada frecuencia de pérdidas fisiológicas de proteínas en individuos sanos debido a la sensibilidad de los métodos empleados. La presencia de piuria y bacteriuria no indica necesariamente la presencia de una lesión renal: generalmente son indicativas de inflamación o infección de las vías urinarias. La prueba ideal sería aquella que mostrara la presencia de lesión de las células de los túbulos renales antes de que se presentasen alteraciones en la función renal.

B. CLASIFICACIÓN

Wolghemut,¹ en 1908, fue el primero que utilizó la determinación enzimática urinaria en el estudio de una enfermedad: cuantificó la amilasa urinaria en la pancreatitis aguda.

Rolaski y Wilkinson,² en 1959, detectaron incrementos en orina de la actividad del enzima glutámico-oxalacético y de láctico-deshidrogenasa en pacientes con enfermedad renal.

En los últimos años, se han utilizado más de 50 enzimas urinarios con fines diagnósticos. De acuerdo con la clasificación bioquímica, las actividades enzimáticas detectadas en orina son (Tablas II a V):

Tabla II
Oxidorreductasas

ENZIMAS	NÚMERO DE CÓDIGO
Láctico-deshidrogenasa	EC 1.1.1.27.
Málico-dehidrogenasa	EC 1.1.1.37.
Isocítrico-deshidrogenasa	EC 1.1.1.41.
Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa	EC 1.1.1.149.
Succinato-deshidrogenasa	
Glutamato-deshidrogenasa	EC 3.99.1.
Diamino-oxidasa	EC 1.4.1.2.
Dihidrofénilalanina-oxidasa	EC 1.4.3.6.
Catalasa	EC 1.11.1.6.

Tabla III
Transferasas

ENZIMAS	NÚMERO DE CÓDIGO
D-glutamil-transferasa	EC 2.3.2.1.
Aspartato-amino-transferasa	EC 2.6.1.1.
Alanino-amino-transferasa	EC 2.6.1.2.
Ribonucleasa	EC 2.7.7.16.
Arginina-ornitina-transaminidasa	

Tabla IV
Hidrolasas

ENZIMAS	NÚMERO DE CÓDIGO
Lipasa	EC 3.1.1.3.
L-gulono-gamma-lactosa-hidrolasa	EC 3.1.1.18.
Colinesterasa	EC 3.1.1.8.
Fosfatasa alcalina	EC 3.1.3.1.
Fosfatasa ácida	EC 3.1.3.2.
Desoxirribonucleasa ácida	EC 3.1.4.5.
Desoxirribonucleasa neutra	EC 3.1.4.6.
Sulfatasas	EC 3.1.6.1.
Amilasa	EC 3.2.1.1.
Muramidasa (lisozima)	EC 3.2.1.17.
Alfa-glucosidasa	EC 3.2.1.20.
Beta-glucosidasa	EC. 3.2.1.21.
Trehalasa	EC. 3.2.1.28.
N-acetil-beta-glucosaminidasa	EC. 3.2.1.30.
Beta-glucuronidasa	EC. 3.2.1.31.
Aminopeptidasa (leucínica, glicínica, cistínica, alanínica)	EC. 3.4.1.2.
Carboxipeptidasa	EC. 3.4.2.2.
Renina	EC. 3.4.4.15.
Proteasas (tríptica, fibrinolítica, catéptica, péptica, calicreínica, orocinasa)	EC. 3.4.4.21.

Tabla V
Liasas

ENZIMAS	NÚMERO DE CÓDIGO
Aldolasa	EC 4.1.2.7.
Hialuronidasa	EC. 4.2.99.1.

Con fines diagnósticos son útiles las siguientes:

- amilasa
- pepsinógeno (derivado del suero)
- LDH

- fosfatasa alcalina
- leucín-aminopeptidasa
- beta-glucosaminidasa
- gamma-glutamyltransferasa
- N-acetil-beta-glucosaminidasa.

C. FUENTES DE LOS ENZIMAS URINARIOS EN CONDICIONES NORMALES

Las fuentes de enzimas urinarios en condiciones normales y de forma más frecuente son el suero, los riñones y las células epiteliales del tracto urogenital

1. Suero

La filtración renal de proteínas séricas y por lo tanto de enzimas, tiene lugar a través del glomérulo renal, interesando de forma casi exclusiva a aquellas con un peso molecular que oscile entre los 70.000 y los 80.000 daltons como límite superior de peso molecular, de ahí que los enzimas de un peso molecular bajo pueden ultrafiltrarse a través del glomérulo, siendo reabsorbidos parcial o totalmente en los túbulos renales (como ejemplo más significativo podemos señalar la albúmina). Otros enzimas como la uroquinasa, aunque poseen un bajo peso molecular se excretan primordialmente por el hígado.

El aclaramiento renal de un enzima sólo puede realizarse con aquellos que no se producen de forma simultánea en el riñón, cosa que ocurre con la amilasa, cuyo aclaramiento es del 3 % del aclaramiento de creatinina.

Tampoco puede realizarse aclaramiento de LDH, Leucin-amino-peptidasa, Fosfatasa Alcalina, Málicodeshidrogenasa etc... pues, al mismo tiempo que son ultrafiltradas, son producidas por otros tejidos renales y en las vías excretoras.^{3, 4, 5, 6, 7}

Los enzimas de peso molecular comprendido entre 80.000 y 160.000 daltons tienen un aclaramiento de unos 0'1 microlitros por minuto, aproximadamente.⁸ La actividad promedio normal de la LDH sérica es de 100 mU/ml, el límite normal de actividad

urinaria oscila entre 7.000 y 15000 mU/ml en orina de 24 horas, excediendo estos valores el aclaramiento que podría estimarse de la LDH.

Igualmente, la filtración glomerular es muy baja en condiciones normales para la Fosfatasa alcalina (peso molecular de 1.000.000) y prácticamente nula para la Beta-glucuronidasa (p.m. 230.000) y Leucin-amino-peptidasa (p.m. 300.000).

2. Riñones

La principal fuente de enzimas urinarios es, sin duda alguna, el tejido renal. Las nefronas de ambos riñones tienen una longitud total de 60 a 75 Kilómetros. Y su superficie interior es de 4 a 5 metros cuadrados.⁹ Si se considera el borde en cepillo de los túbulos contorneados proximales, la superficie es de 50 a 70 metros cuadrados.

Las células tubulares son ricas en enzimas y constituyen la fuente principal de enzimas urinarios merced a su recambio fisiológico en los individuos normales. Las células descamadas y desintegradas contribuyen a la actividad enzimática de la orina, aunque hay algunas como la Succinato deshidrogenasa que se inactiva o destruye.

La permeabilidad de la membrana tubular contribuye asimismo a la actividad enzimática de la orina, de ahí que en orina normal sea posible encontrar enzimas como la Fosfatasa alcalina o la Leucin-amino-peptidasa.

El estudio de la localización de los diferentes enzimas en las diversas estructuras de la nefrona ha sido posible gracias a técnicas de disección microscópica y a ultramicroanálisis.^{10,11,12}

3. Células epiteliales del tracto urogenital

La descamación fisiológica de las células epiteliales de la pelvis renal, uréter y vejiga urinaria contribuyen en mínimo grado, a la actividad enzimática urinaria, la cual estará en relación con la cantidad de células existentes; la actividad enzimática en dichas células, y el grado de lisis celular.

No es posible valorar la actividad enzimática ni el grado de lisis de estas células, no así el número de las mismas, aunque la mayoría de autores coincide en que la contribución de las células del tracto urogenital en la actividad enzimática de la orina es insignificante.

4. Secreciones glandulares del tracto urogenital

La mayor parte de las glándulas del tracto urogenital producen secreciones, cuya actividad enzimática es considerablemente elevada, contribuyendo en gran medida a la actividad enzimática total de la orina.

Así, por ejemplo, en el varón, la secreción prostática es responsable de la mayor parte de la actividad de la fosfatasa ácida de la orina. En el plasma seminal existe gran cantidad de LDH, GOT, GPT, esterasas, etc. y en determinadas circunstancias esta actividad enzimática del líquido seminal puede aparecer en la orina.

En la mujer, las secreciones de las glándulas del cérvix pueden contribuir a dicha actividad.

D. FUENTES DE LOS ENZIMAS URINARIOS EN CONDICIONES PATOLÓGICAS

La actividad enzimática de la orina es variable, oscilando ampliamente en condiciones fisiológicas y mucho más en condiciones patológicas, dada la multitud de factores que intervienen en la actividad enzimática total.

En condiciones patológicas, las fuentes de los enzimas urinarios son el suero, riñones, tumores urogenitales, células de infiltrados y exudados, hematíes, bacterias, etc.

1. Suero

Como hemos señalado, en condiciones normales el suero contribuye a la actividad enzimática urinaria exclusivamente con aquellos enzimas de peso molecular inferior a 80.000 daltons. En condiciones patológicas, en cambio, los hechos suceden de la siguiente manera:

- Incremento en orina de enzimas existentes en condiciones normales, ante diversas situaciones patológicas: amilasa urinaria en enfermedades del páncreas, LDH y Beta-glucuronidasa en diversas infecciones y procesos tumorales, etc.
- Aparición de enzimas de novo en orina en determinadas enfermedades renales tales como algunas oxidorreductasas (Málico-dehidrogenasa, catalasa, etc.), transferasas (GPT, Arginina-ornitina-transaminidasa, etc.), hidrolasas (N-acetil-beta-glucosaminidasa), liasas (aldolasa), que no aparecen normalmente en orina.

- Desaparición o disminución acusada de determinados enzimas en condiciones patológicas, como ocurre con la calicreína en diversos procesos renales de índole vascular.

2. Riñones

El tejido renal es, sin duda, la fuente más importante de enzimas en la orina, dada la extensión y longitud de las nefronas.

En circunstancias patológicas, el ascenso de actividad enzimática en orina de origen renal se debe a desintegración y lisis de células tubulares y a una alteración de la permeabilidad del sistema tubular. Estos factores contribuyen al incremento de la actividad de enzimas que existen previamente en orina, aunque en pequeñas cantidades (N-acetil-beta-glucosaminidasa) o bien que no se detectaban anteriormente (Arginina-ornitina-transaminidasa).¹³

La alteración de la excreción de enzimas depende de varios factores:

- Intensidad del daño renal
- Patrón enzimático de las zonas dañadas.
- Localización de los enzimas en las células afectadas (borde en cepillo).
- Estructuras a las que están unidos los enzimas
- Propiedades físicas de los enzimas.

Todos estos conocimientos han sido posibles gracias a los trabajos experimentales realizados en ratas, animal de elección en dichas circunstancias, cuya nefrona es muy similar a la humana.

3. Tumores urogenitales

Las células tumorales contienen gran cantidad de enzimas de elevada actividad. Cuando se descaman y pasan a la orina, con su lisis contribuyen al incremento de actividad enzimática en la misma.

Se han descrito elevaciones muy importantes de LDH, Beta-glucuronidasa, Fosfatasa Alcalina, etc., aunque sin lugar a dudas, no son específicas, pues el tumor, sea de la localización que fuere, no se presenta de forma aislada, sino que se asocia a procesos inflamatorios e infecciosos, con la subsiguiente aparición de exudados leucocitarios, pequeñas hemorragias de las zonas tumorales y peritumorales y de superinfección bacteriana.

4. Células de infiltrados y exudados

Los procesos inflamatorios del riñón y de las vías urinarias se acompañan de infiltración leucocitaria (neutrófilos, linfocitos, etc.) cuyo contenido enzimático puede contribuir al ascenso de la actividad enzimática total de la orina.

En orinas con recuentos leucocitarios elevados encontramos niveles enzimáticos elevados de LDH en orina de 24 horas (superiores a 15.000 mU).¹⁴

En ciertos enzimas, gracias a la posibilidad de determinación de sus isoenzimas, como ocurre con LDH, es posible diferenciar las fracciones de origen leucocitarias ya que la LDH-1, LDH- 2 y LDH-3, se encuentran en la orina normal, mientras que la LDH-4 y LDH-5 están en cantidades mínimas, aumentando en casos de leucocituria.

5. Hematíes

La contribución enzimática de los eritrocitos a la actividad enzimática total de la orina depende fundamentalmente de tres factores:

- Actividad de enzima en las células.
- Número de células existentes en la orina.
- Grado de lisis celular.

Tanto la actividad del enzima como el grado de lisis no pueden determinarse, de ahí derivan los inconvenientes que se presentan en la valoración de la actividad enzimática que aporten los hematíes a la orina.

Los eritrocitos tienen 90 U de LDH / gr. de hemoglobina.¹⁴ Para duplicar la actividad enzimática de LDH en orina sería necesaria la presencia de 5 millones de hematíes lisados completamente por mililitro de orina.

6. Bacterias

Las bacterias influyen de forma importante en la actividad enzimática de la orina de dos maneras:

- Por una parte, poseen gran número de enzimas cuya actividad se suma a la procedente de otras fuentes, por ejemplo la catalasa.
- De otro lado, las bacterias pueden ocasionar infección del tracto urinario y en consecuencia la aparición de infiltrados inflamatorios así como descamación de las células de las vías urinarias, contribuyendo al ascenso de la actividad enzimática total.

Podemos concluir que todas las enfermedades renales de tipo bacteriano determinan cambios en la actividad enzimática de la orina, aunque la especificidad de un patrón enzimático bacteriano de la orina sea muy dudosa, dado el gran número de enzimas y las demás circunstancias incriminadas en ellos.

E. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA URINARIA

Son muchos los factores que influyen en la actividad enzimática urinaria. De todos ellos, vamos a analizar los más importantes:

1. pH

La orina es un medio desfavorable para la conservación de los enzimas, y puede alterarse con facilidad la estructura molecular de los mismos. El pH urinario es muy variable, dependiendo de múltiples circunstancias: la mayor parte de los enzimas tienen máxima actividad cuando el pH se aproxima a la neutralidad, disminuyendo la misma con los cambios ácidos o básicos.

Josch y cols.¹⁵ han estudiado este fenómeno señalando que un enzima que es estable a pH neutro puede quedar totalmente inactivo a pH 5.

Otros autores como Jung y cols.¹⁶ observaron que enzimas urinarios como A.A.P., Gamma GT, NAG, tenían como pH óptimo 6'5 mientras que para LDH y AP era de 8, como puede observarse en la Tabla VI:

Tabla VI

Estabilidad de los enzimas urinarios a diferente pH tras incubación a 37° durante 2 horas

	pH: 4,7	pH: 6,5	PH: 8
A.A.P.	50,3 ± 2,2	100,7 ± 3,1	94,5 ± 6,7
A.L.P.	9,5 ± 0	87,6 ± 2,8	89,6 ± 2,2
GAMMA-G.T.	57,6 ± 5,9	94,5 ± 2,7	88,5 ± 3,2
L.D.H.	0	86,8 ± 4,5	97,0 ± 0,7
N.A.G.	92,3 ± 2,4	96,3 ± 5,8	69,1 ± 2,5

Estos autores han observado que estos enzimas y sus isoenzimas determinados por gel de filtración y tratados con albúmina y etilén-glicol pueden ser almacenados durante un año a -20° C permaneciendo estables, salvo la Gamma-GT.

2. Urea

La concentración de urea en la orina juega también su papel, es más, Wilkinson¹⁷ ha señalado que puede inactivar de forma irreversible determinados enzimas. Las actividades enzimáticas de la orina, especialmente de la LDH se ven por tanto influídas por el tiempo de permanencia de la misma en la vejiga.

3. Activadores e Inhibidores

La presencia de activadores e inhibidores en la orina se conoce desde hace varios decenios, aunque su significación clínica es compleja.

Las fuentes de los activadores e inhibidores puede ser renal, sérica o bien proceder de las secreciones genitales. **El primer inhibidor conocido fue la tripsina.**

La mayor parte de los inhibidores de la orina pueden ser eliminados con hemodiálisis, algunos de forma total. Este es el motivo por el que en la actualidad, en la mayor parte de los trabajos se utilicen orinas dializadas.¹⁴

Actualmente se conocen bien algunos inhibidores, tales como el inhibidor de la LDH, del que se han descrito dos péptidos con pesos moleculares de 1.700 y 2.500 daltons, caracterizados por inhibir específicamente los isoenzimas LDH 4 y LDH 5, respectivamente.¹⁸ La AP es inhibida por iones fosfato.¹⁹ La beta-glucuronidasa es inhibida por algunos ésteres glucurónicos y también por la sacarolactona.²⁰ Las peroxidasas son inhibidas por el ácido úrico y por el ácido ascórbico.¹⁴

Hoy sabemos que la mayor parte de los fármacos que se eliminan por la orina inhiben o interfieren la actividad enzimática. Es muy conocida la acción inhibitoria de la nitrofurantoína y de la etionamida sobre la LDH y la AP; también se conoce la inhibición que ejercen los enzimas del sistema fibrinolítico sobre la actividad LAP.

El sistema de los activadores enzimáticos es menos conocido, aunque se sabe que la sucrosa activa la trehalasa urinaria.²¹

4. Volumen de orina

El grupo de Amodio y cols.^{22,23} ha realizado las principales observaciones. Han analizado un grupo de enzimas en la orina: Lisozima, Malato-deshidrogenasa, Gamma-GT y Alfa-glucosidasa.

Igualmente Josch y cols.¹⁵ han estudiado dichos enzimas. Las determinaciones enzimáticas obtenidas no han sido diferentes según el sexo. Además han descrito que cuando se provocan diuresis forzadas, se produce un aumento significativo de la enzimuria.

Jung y cols.²⁴ estudiaron la excreción de N-acetil-beta-glucosaminidasa y la succinicopeptidasa y la gamma-glutamyltranspeptidasa urinarias en orinas recogidas durante 8 horas tras la ingesta de glúcidos (22ml./ Kg. de peso) demostrando que la excreción de enzimas era directamente proporcional al flujo renal.

En los animales de experimentación, la sobrecarga acuosa (diuresis hídrica) se acompaña de un incremento de la enzimuria en los primeros días, pero si se mantiene

la sobrecarga, este fenómeno desaparece. Ello se ha creído debido a un incremento en la perfusión y recambio de los túbulos renales que posteriormente se compensa. Fenómenos similares se han observado cuando se administran sustancias con acción diurética como la cafeína, la oxitocina-vasopresina, etc.

5. Excreción de iones

Las sobrecargas electrolíticas (sodio, potasio, etc.) no producen alteraciones en la eliminación urinaria de enzimas, aunque se mantengan por períodos de semanas. La deplección de iones potasio conduce a una tubulopatía (nefropatía hipokaliémica), que se acompaña de ascenso en la actividad enzimática urinaria, secundaria al daño tubular. Experimentalmente en ratones se ha observado que la deplección sódica produce igualmente un incremento de la actividad enzimática en la orina, de génesis desconocida.

6. Temperatura

También va a influir en la actividad de los enzimas urinarios, así Beck y Sammons²⁵ han demostrado que la Gamma-glutamyltranspeptidasa es estable si se almacena a 4° C y que la urea es el mayor responsable de la pérdida de actividad, mientras que la albúmina (6g / l) tiene efecto protector.

F. VARIACIONES DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA SEGÚN EDAD Y SEXO

La actividad enzimática existente en la orina oscilará en diversas circunstancias fisiológicas. Desgraciadamente se dispone de escasa información al respecto.

La mayoría de los enzimas urinarios sufren modificaciones en su actividad en relación con la edad y el sexo, aunque los conocimientos son incompletos y fraccionados. Los datos han sido estudiados profundamente por Dohrman,²⁶ para la Beta-glucuronidasa.

Las primeras referencias se centraban en el enzima Beta-glucuronidasa: Fishman²⁷ demostró un aumento de su actividad después de la administración de estrógenos. Del mismo modo, se ha observado incremento de la actividad en la mujer gestante, probablemente debido a la síntesis placentaria.

Thiele²⁸ ha descrito mayor actividad enzimática de la gamma-glutamyltranspeptidasa urinaria en hombres que en mujeres, al igual que Orlowski.²⁹

Paigen-Paigen³⁰ han estudiado la eliminación urinaria de enzimas lisosómicos (beta-glucuronidasa, alfa-galactosidasa, y beta-hexosaminidasa), y no han encontrado diferencias en cuanto al sexo ni la edad salvo para la última, que presenta una tendencia a incrementar sus niveles conforme avanza la edad. Por otra parte, en los niños suele existir una eliminación mas marcada de todas las hidrolasas.

Caballo Roig y cols.³¹ han estudiado la N-acetil-β-glucosaminidasa en el primer año de vida, siendo los resultados iguales en ambos sexos y de forma distinta con la edad, siendo significativamente menor la excreción en los menores de 3 meses, con respecto a los mayores de 6 meses.

Por otro lado, Vanderjagt y cols.³² han estudiado los cuatro enzimas lisosomales siguientes (beta-hexosaminidasa, alfa-galactosidasa, beta-galactosidasa y beta-glucosaminidasa) en relación con la edad , individuos adultos maduros ($55 \pm 3,3$ años) frente a adultos jóvenes ($35,5 \pm 5,9$ años).

Salgo y Szabo³³ estudiaron la Gamma-GT urinaria en niños con riñones sanos, obteniendo los datos reflejados en la Tabla VII.

Tabla VII
Gamma G.T. Urinaria en niños con riñones sanos

EDAD	MEDIA	SIGNIFICACIÓN
1 - 6 días	$10,57 \pm 4,35$	< 0,01
3 días / 1 mes	$9,86 \pm 3,25$	< 0,01
2 - 3 meses	$14,35 \pm 4,47$	< 0,05
4 - 6 meses	$15,84 \pm 3,71$	< 0,05
7 - 12 meses	$16,49 \pm 3,32$	< 0,05
2 -4- años	$15,83 \pm 4,05$	< 0,05
5 -8- años	$16,88 \pm 3,15$	< 0,05
9 -17 años	$17,40 \pm 3,49$	

En este estudio, la diálisis aumenta en un 60 % la actividad enzimática urinaria en los casos estudiados.

Salgo y Szabo³³ también estudiaron dicho enzima en pacientes con glomerulopatías (Tabla VIII) y en otras enfermedades renales (Tabla IX).

Tabla VIII

Gamma G.T. en pacientes con glomerulopatías

GLOMERULOPATÍAS	Nº	Gamma G.T. mg/l
G. mesangioproliferativa	3	45,93 ± 18,85
G. proliferativa focal	5	86,36 ± 104,49
G. focal esclerosante	8	50,33 ± 14,73

Tabla IX

Gamma G.T. Urinaria en enfermedades renales

DIAGNÓSTICO	Nº	U / l M ± SD	U / día M ± SD
Neonato normal	60	10,57 ± 5,35	820,3 ± 714,4
Neonato enfermo	17	28,38 ± 9,48	1485 ± 788
Niños	16	16,92 ± 6,6	1,263 ± 0,695
Pielonefritis	40	89,33 ± 102,1	5,513 ± 4,481
Glomerulopatías	49	42,65 ± 18,8	32,86 ± 24,29
Urolitiasis	13	33,73 ± 7,5	27,33 ± 16,65
Malformaciones	13	17,53 ± 9,8	1.165 ± 0,60
Diabetes insípida	8	24,94 ± 6,1	45,19 ± 25,55
Tumor de Wilms	2	45,39	1.738
S. Alport	2	75,35	36.670
Intoxicaciones	3	95,96	114.850

Jung y cols.³⁴ estudiaron otros cuatro enzimas. Alanino-amino-peptidasa (AAP), Fosfatasa alcalina (FA), Gamma-GT (GGT) y **N-acetil-beta-glucosaminidasa** (NAG).

En 442 casos de niños de diversas edades y en adultos de ambos sexos (Tabla X). Hay diferencias que son evidentes para algunos enzimas en función del sexo y descenso de la actividad enzimática a medida que la edad avanza.

Tabla X

Valores de A.A.P., F.A., Gamma G.T. y N.A.G. según edad y sexo

EDAD	SEXO	A.A.P.	F.A.	G.G.T.	N.A.G.
5 días - 6 meses	M-F	39,5	17,5	43,3	19
7 meses – 2 años	M-F	26,6	13,7	45,4	16,7
3 - 6 años	M-F	6,1	5,3	15,8	2,5
7 - 12 años	M	4,5	3,5	9,3	1,5
	F	3,3			
13 - 18 años	M	5,0	3,2	11,5	2,5
	F	2,5			1,2
23 - 58 años	M	2,2	5,6	6,7	0,66
	F			7,0	0,93

Maruhn y cols.,³⁵ estudiando la actividad de once enzimas, encontraron diferencias significativas en uno u otro sexo, según se aprecia en la Tabla XI.

Tabla XI

Diferencias en la excreción urinaria de enzimas según sexo

ENZIMAS	HOMBRES		MUJERES	
	Valor T	Probabilidad	Valor T	Probabilidad
Alfa – HBD	-4.261	0,001	-77.232	0,001
L.D.H.	-10.500	0,001	-4.754	0,001
Gamma G.T.	46.979	0,001	-10.136	0,001
A.P.	-0,334	N.S.	-2.920	0,01
A.S.A.	0,287	N.S.	-1.586	N.S.
Alfa-GLU	47.218	0,001	7.203	0,001
Beta –GLU	1.198	N.S.	1.003	N.S.
T.R.E.	6.329	0,001	19.457	0,001
A.G.S.	7.141	0,001	-11.909	0,001
Beta - G.T.	10.569	0,001	-1.727	N.S.
L.A.P.	5.402	0,001	1.453	N.S.

Houser³⁶ y Stalarek y cols.³⁷ no han encontrado diferencias significativas en diferentes grupos de edad para lisozima y NAG.

II. ESTUDIO DE LA N-ACETIL-BETA-GLUCOSAMINIDASA

A. INTRODUCCIÓN

El *N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) (EC 3.2.1.30)*, es un enzima con estructura glucoprotéica, localizado en los lisosomas e implicado en la degradación de los mucopolisacáridos y glucoproteínas.

Debido a su elevado peso molecular, que oscila entre 130.000 y 140.000 daltons,³⁸ no es filtrado por el glomérulo. Se sintetiza a nivel renal, en las células del túbulo proximal³⁹ excretándose por la orina.

También está presente en el hígado, concretamente sus **isoenzimas A y B**. En el suero y en el líquido cefalorraquídeo se ha encontrado un componente A que se distingue del hepático gracias a técnicas cromatográficas (cromatografía de intercambio iónico), denominándose **AS**.

En la orina, el 85 % del NAG es de tipo A y el resto B, aunque este último componente aumenta en determinadas enfermedades parenquimatosas y tubulares renales. En la mujer gestante se ha detectado otro isoenzima del NAG, identificado con la letra **P**.

Existen otros isoenzimas del NAG presentes en el hígado, riñón, suero y orina. Se trata de formas intermedias y se denominan **I1** e **I2**. En la Tabla XII se detallan la proporción y distribución de los distintos isoenzimas del NAG.

Tabla XII

Actividad de los isoenzimas del N.A.G. en tejidos⁴⁰

	B	I	AS	A
RIÑÓN	18,3%	2,7%	–	78,0%
ORINA	9,5%	4,0%	–	85,5%
SUERO	13,0%	15,4%	68,6%	–
L.C.R.	–	–	99,0%	–
HÍGADO	31,0%	20,0%		48,0%

La determinación urinaria del NAG se ha extendido bastante en los últimos años, gracias a su contribución en el diagnóstico de enfermedades renales y sistémicas.

La **excreción urinaria de NAG varía a lo largo del día**, siguiendo un ritmo circadiano, al igual que ocurre con otros enzimas lisosómicos.³⁹ Price y cols.⁴¹ fueron los primeros en señalar que existía diferencias en la actividad urinaria de NAG durante el día, respecto a la noche.

Otros como Lockwood y Bossman^{42, 43} no observaron estas diferencias, probablemente porque estudiaron pocos casos. Lakatua y cols.⁴⁴ han demostrado que existen diferencias en la excreción urinaria del NAG en función del **sexo**: observan en las mujeres un pico de excreción máximo entre las 7 y las 9 horas de la mañana, y el mínimo a las 20 horas; en el varón estas diferencias son menos evidentes, siendo casi homogénea la actividad diaria del NAG.

Estas diferencias se atribuyen a la acción hormonal estabilizadora de la testosterona en los varones. Estudios experimentales han demostrado el efecto de la administración de testosterona sobre la excreción urinaria de diversos enzimas, como la gamma-glutamiltanspeptidasa, alanina-aminopeptidasa y NAG.⁴⁵

Girolami y cols.⁴⁶ han demostrado que las hormonas sexuales masculinas juegan un papel en la secreción tubular de diversos enzimas, entre ellos el NAG. Tras la castración de la rata macho, varía la excreción diurna de NAG, apareciendo un pico máximo matutino como ocurre en las ratas hembras.⁴⁷

En sujetos sanos, la excreción urinaria de NAG sigue un ritmo variable a lo largo del día, descendiendo ligeramente durante el día y aumentando durante la noche.

En relación a la **edad**, también se han observado variaciones. Jung y cols.³⁴ encontraron elevaciones importantes del NAG en recién nacidos y lactantes hasta los seis meses (Tabla XIII). Posteriormente, los niveles urinarios de NAG se igualan entre el año y los 6 años de vida.⁴⁸ En adolescentes y adultos jóvenes, estos niveles son aun menores, siendo los más bajos entre los 18 y los 30 años de edad. Conforme aumenta la edad también ocurre lo mismo con los niveles urinarios de NAG.⁴⁹

Tabla XIII

Actividad del N.A.G. en sujetos sanos. N.A.G. (U/g creatinina)

	HORAK ⁴⁸	JUNG ⁵⁴	ALDERMAN ⁴⁹
< 2 meses	42 ± 30	19,0 ± 6,1	–
2-6 meses	21 ± 20	20,0 ± 19,6	–
6 mes - 2 años	6,6 ± 8,2	16,7 ± 9,6	–
2 a 6 años	5,7 ± 6,6	2,5 ± 1,9	–
6 a 12 años	4,2 ± 2,7	1,5 ± 0,9	–
12 a 18 años	4,1 ± 1,9	2,5 ± 2,1	–
18 a 30 años	2,6 ± 2,0	1,9 ± 0,6	–
30 a 50 años	3,9 ± 1,3	0,9 ± 1,9	31 ± 1,3
50 a 65 años	–	–	29 ± 1,7
>65 años	–	–	1,6

Conforme aumenta la edad se producen una serie de cambios en el riñón adulto:

- Entre la cuarta y octava décadas los riñones pierden el 30 % de su masa y volumen.
- Existe descenso en el número de túbulos renales⁵⁰ y de glomérulos funcionantes.⁵¹

Estos cambios se deben a la atrofia de las arteriolas aferentes y eferentes, a esclerosis glomerular y a una reducción del flujo glomerular.⁵² Además existe un incremento en la permeabilidad de la membrana basal glomerular con aumento de la excreción urinaria de proteínas.

Vanderjagt³² señala que la actividad sérica y urinaria del NAG es mayor en individuos por encima de los 60 años que en adultos jóvenes, lo que refleja una lesión tubular subclínica dependiente de la edad. De igual forma, con la edad también se altera la excreción urinaria de otros enzimas lisosómicos como la alfa-galactosidasa, beta-galactosidasa y beta-glucuronidasa, aunque en menor cuantía que el NAG.³⁴

Con respecto a la **raza**, no se han encontrado diferencias en la actividad urinaria del NAG.^{49,53,54}

La cuantificación de los enzimas urinarios depende de una serie de condicionantes como el **pH** o la **temperatura** a la que se conserva la orina.^{55, 56} Otro factor de gran

importancia es el **flujo de orina**, de ahí que la excreción urinaria de NAG se refiera por volumen de orina (U/l) o bien en relación al tiempo de excreción (U/hora).⁵⁴

Algunos autores como Werner⁵⁷ expresan la actividad urinaria de NAG en unidades por gramo de creatinina, lo que ofrece la ventaja de no depender de la diuresis y permitir que en los estudios randomizados exista estandarización de todos los grupos.

B. NAG EN EL EMBARAZO

Desde el trabajo inicial de Walker y cols.⁵⁸ en 1960, se conoce la importancia del enzima lisosómico NAG durante el embarazo.

En diversos estudios no se han encontrado diferencias en los niveles séricos de NAG en adultos de ambos sexos. Tampoco se han objetivado variaciones de esta enzima a lo largo del ciclo menstrual de la mujer.⁵⁹

En la mujer embarazada, las concentraciones séricas de NAG varían a lo largo del embarazo. Se ha observado que existe una elevación del mismo conforme avanza el embarazo, siendo un ascenso casi logarítmico, incrementándose aproximadamente el doble cada trimestre.⁶⁰ El incremento de NAG que acontece en el embarazo tiene lugar no solo en suero sino en otros tejidos orgánicos. Numerosos autores han comprobado la existencia de actividad de esta enzima en la placenta y membranas fetales en animales de experimentación: observan una moderada actividad del enzima en la placenta similar a la existente en el hígado y en el bazo, mientras que la actividad en el cordón umbilical es mucho mayor,⁶¹ similar a la que existe en el epidídimo.

Se ha estudiado la localización tisular del N-acetil- β -glucosaminidasa en los tejidos mediante métodos inmunohistoquímicos, hallándose gran cantidad de esta enzima en las células de la decidua basal y en la lámina corioónica de la placenta, y en menor proporción en el tejido conectivo coriónico, en el amnios y en las vellosidades placentarias.⁶²

El NAG es una enzima que se encuentra en gran cantidad en los lisosomas de los túbulos renales. Su excreción en orina es un fiel reflejo de su actividad tubular, estando incrementada en diferentes enfermedades renales agudas⁶³ y crónica.⁶⁴

Durante el embarazo, con cierta frecuencia pueden desarrollarse enfermedades renales que no presentan una sintomatología muy evidente y que pueden pasar desapercibidas, aunque presentan alteración de los niveles urinarios de NAG. En el embarazo normal, al igual que ocurre en sangre y en otros tejidos, existe un incremento de la actividad de NAG en la orina que acontece de forma gradual, alcanzando su concentración máxima entre las 32 y las 36 semanas de gestación.⁶⁵

Inicialmente se utilizó la determinación urinaria de NAG en la detección precoz de mucopolisacaridosis en el recién nacido. Posteriormente, se demostró la existencia de un aumento en las concentraciones de este enzima en las vellosidades coriónicas de abortos, confirmado posteriormente mediante cultivo de fibroblastos.⁶⁶ Poenaru⁶⁷ determinó esta enzima en el líquido amniótico en la undécima semana de gestación, y observó un incremento de su actividad en la mucopolisidosis tipo II. Otros autores han determinado el NAG en el líquido procedente de la amniocentesis precoz para el diagnóstico de enfermedades renales sin buenos resultados,⁶⁸ aunque la elevación de los niveles de esta enzima solo indica que existe daño renal. Agosti y cols.⁶⁹ no han encontrado correlación entre los valores de NAG en el líquido amniótico y el de la orina, existiendo en esta última concentraciones superiores del isoenzima fetal, que perdura en los primeros meses de vida.

En los casos de retraso en el crecimiento intrauterino fetal, Pachi⁷⁰ ha observado la presencia de daño de las células tubulares renales con un incremento del NAG en el líquido amniótico.

La utilidad del estudio del NAG urinario durante el embarazo viene corroborada por los trabajos que determinan este enzima en diferentes enfermedades sistémicas con afectación renal que se ven agravadas por la gestación.

En pacientes con diabetes mellitus, las alteraciones en la actividad urinaria de NAG se han relacionado con la presencia de nefropatía diabética⁷¹ o bien con mal control de los niveles de glucemia.⁷² Autores como Skrha⁷³ no han observado variaciones en los niveles urinarios de este enzima entre mujeres sanas y diabéticas. No obstante encontraron una correlación entre la presencia de albuminuria y la actividad de la NAG.

En los recién nacidos de madres diabéticas, el NAG urinario es similar al que presentan los hijos de gestantes no diabéticas.⁷⁴

El estudio del NAG urinario durante el embarazo reporta mayor interés en los Estados Hipertensivos del Embarazo (EHE), constituyendo un marcador de daño renal. En la preeclampsia, la actividad urinaria de este enzima es superior a la elevación del NAG fisiológica de la gestación,^{75,76} siendo esta diferencia significativa desde el punto de vista estadístico.⁷⁷ Tiene lugar como consecuencia de la isquemia tisular que se presenta en la endoteliosis glomerular, que es la lesión renal característica de este cuadro.⁷⁸

Se ha encontrado una correlación entre los niveles urinarios de NAG y las concentraciones séricas de ácido úrico en la preeclampsia, de ahí que la determinación de este enzima pudiera tener utilidad en el diagnóstico temprano de esta entidad.⁷⁹

En los últimos años, se le está concediendo un interés creciente al estudio del NAG en leche materna. Estudios experimentales han corroborado un aumento de su actividad en las últimas semanas del embarazo y su posterior descenso en el postparto,^{80,81} influenciado por la acción de los estrógenos.⁸²

También se ha encontrado una elevación de este enzima en la leche materna en caso de mastitis, así como en otros procesos inflamatorios de la mama provocados de forma experimental.^{83,84}

Al igual que ocurre fuera del embarazo, la determinación urinaria de NAG es útil en el diagnóstico del desarrollo de toxicidad renal provocada por determinados fármacos y sustancias químicas. En ratas gestantes, de forma experimental Saillenfalt y cols.,⁸⁵ han comprobado un incremento en la actividad urinaria del NAG tras su exposición a diferentes compuestos como metilmercurio, gentamicina, amikacina a dosis tóxicas.⁸³ Se puede predecir el daño renal ocasionado por sustancias nefrotóxicas en ratas recién nacidas, determinando este enzima en la orina.^{86,87}

C. ALTERACIONES DEL N.A.G EN DIFERENTES SITUACIONES RENALES PATOLÓGICAS

Las modificaciones en la excreción urinaria de NAG van a depender de diferentes alteraciones producidas primariamente en el riñón, a nivel de su parénquima o de sus túbulos y a otras alteraciones renales derivadas de la participación renal en algunas enfermedades sistémicas.

A continuación señalaremos las enfermedades propiamente renales en las que se afecta el NAG:

1. Glomerulonefritis

La excreción de una sustancia en la orina depende de su concentración en el plasma y del estado de la función renal en relación a la permeabilidad glomerular y a la reabsorción/excreción tubular. Este último hecho puede tener enorme importancia en la clínica.

El valor de la enzimuria como marcador del daño del parénquima renal ha sido evaluado mediante la determinación de lisozima, lácticodeshidrogenasa, aminopeptidasa, hidrolasa y glicosilasas.

La determinación de glicosilasas urinarias en la detección del daño renal en las infecciones urinarias de las vías altas fue evaluada desde hace más de veinticinco años por Bank⁸⁸ y Shapiro.⁸⁹

Wellwood⁹⁰ y Kunin⁹¹ señalaron un incremento de las glicosilasas urinarias en pacientes con glomerulonefritis, debido probablemente a una permeabilidad glomerular incrementada a las macromoléculas, incluidas las glicosilasas.⁹² La causa parece depender de los enzimas liberados por los leucocitos polimorfonucleares en el glomérulo y del daño parenquimatoso renal.⁹³

Hultberg⁶⁴ no está de acuerdo con estos hechos y aunque encuentra niveles elevados del NAG en las glomerulonefritis, éstos están influenciados por el grado de lesión renal: cuando hay lesiones mínimas y focos de esclerosis, la alteración del NAG es mucho menor que cuando existen glomerulonefritis proliferativas o membranosas.

Por tanto, se especula que el aumento de la excreción urinaria de NAG va a depender fundamentalmente del grado de lesión renal existente mas que del incremento de la permeabilidad glomerular a las macromoléculas.

2. Pielonefritis

Las pielonefritis pueden ocasionar daño renal importante, por lo que su detección precoz es muy útil.⁹⁴ En niños con infecciones del tracto urinario alto es en donde, debido a sus temidas complicaciones, tiene mayor interés la práctica de estudios más

minuciosos para conseguir dicho objetivo y dentro del protocolo para su estudio se encuentra la determinación urinaria de NAG.

El incremento de la excreción urinaria de NAG se encontró por primera vez en niños que eran portadores de malformaciones del tracto urinario o de reflujo vésico-ureteral sin infección,⁹¹ aunque ha de tenerse en cuenta, como ya hemos señalado con anterioridad, que los niveles en orina de este enzima dependen de la edad, siendo más altos en los niños que en los adultos sanos.⁹⁵

Un dato de gran valor en las infecciones urinarias es la determinación de los isoenzimas del NAG. El isoenzima B, como hemos comentado aumenta en su proporción con respecto al isoenzima A cuando existe infección urinaria, por lo que aporta más información en el diagnóstico de infección urinaria.^{40, 96}

En pacientes con reflujo vésico-ureteral es en donde se encuentran con mayor frecuencia pielonefritis atrófica e infecciones del tracto urinario.^{97, 98, 99} El diagnóstico debe ser precoz con objeto de prevenir el daño renal. Se utiliza la determinación de NAG con buenos resultados. Hultberg⁶⁴ ha encontrado niveles elevados de este enzima de forma proporcional al daño renal existente, teniendo valor incluso antes de que existan cambios pielonefríticos.

En relación con el grado de extensión de la pielonefritis, Vígano¹⁰⁰ observa niveles superiores de NAG en las infecciones del tracto urinario alto con respecto a las del tracto inferior, e incluso que en los individuos sanos estudiados, sin embargo Johnson,¹⁰¹ no encuentra diferencias en la excreción urinaria de NAG en niños con cistitis o pielonefritis.

Podemos concluir que la determinación del NAG en las infecciones del tracto urinario es de gran utilidad en niños máxime si hay malformaciones asociadas y aún más si se determinan sus isoenzimas.^{102, 103, 104}

3. Síndrome nefrótico

La cantidad de proteínas excretadas en orina puede constituir un índice de daño renal. El incremento de proteínas de bajo peso molecular tales como beta-microglobulina, fosfatasa alcalina, gamma-glutamiltranspeptidasa, etc. indicaría la existencia de acidosis tubular renal, diabetes mellitus o daño tubular por fármacos.^{53, 91, 104}

La determinación urinaria de un incremento de NAG, además de contribuir en el diagnóstico de glomerulonefritis y de pielonefritis, también se ha visto útil en el diagnóstico de síndrome nefrótico donde también está aumentado.⁶⁴ Al ser un enzima del túbulo proximal, se han hallado elevaciones de su nivel en orina en lesiones tubulares segmentarias¹⁰⁵ y en el síndrome nefrótico debido al daño tubular que conlleva.

Tucker¹⁰⁶ ha observado un incremento del isoenzima B del NAG en el síndrome nefrótico, similar a lo que se encuentra en los casos de infección urinaria.

De forma experimental, Hofmeister¹⁰⁷ ha encontrado una correlación entre la lesión histológica inducida en ratas (vacuolización de las células del túbulo proximal renal) y la elevación del NAG.

4. Nefropatías tóxicas

La evaluación del grado de afección renal tras la exposición a diferentes fármacos nefrotóxicos es otra de las aplicaciones de la determinación urinaria de NAG.^{108, 109}

Los aminoglucósidos han sido los fármacos mejores estudiados. La incidencia de nefrotoxicidad inducida por los mismos oscila entre el 2'8 y el 52% según los distintos autores.^{110, 111, 112}

El riesgo de morbilidad puede incrementarse ante edad avanzada, hipovolemia, exposición previa a otros fármacos nefrotóxicos como anestésicos, diuréticos, etc. o bien a contrastes radiológicos.^{113, 114, 115}

Wellwood^{90, 116} fue el pionero en la realización de estudios enzimáticos urinarios en las nefropatías tóxicas, realizando la determinación de enzimas como: **N-acetil-β-glucosaminidasa**, beta-galactosidasa, gamma-glutamyltranspeptidasa y alanina-aminopeptidasa, que fueron las más útiles.

Los resultados obtenidos por Gibey¹¹⁷ utilizando el NAG evidenciaron que es el marcador más efectivo de la nefrotoxicidad inducida por la gentamicina, en comparación con la alanina-aminopeptidasa y la β-2-microglobulina.

Se recomienda la determinación diaria de NAG por dos razones:

- a) Para distinguir las dos formas de respuesta del túbulo renal al aminoglucósido, tal y como describieron Fillastre y Godin.¹¹⁸
- b) Con objeto de predecir la evolución del estado del túbulo proximal. Es de evolución más favorable una tubulopatía que curse con elevación inicial de NAG por encima de 1500 micromol./día y que rápidamente se normalice.¹¹⁷

Por tanto, se confirma que el estudio del NAG en orina es el mejor test biológico para evaluar el deterioro de la función tubular en pacientes con nefropatías tóxicas ya que nos orienta acerca del estado de las células del túbulo proximal, de su evolución y de las posibles secuelas.

También se han visto alteraciones en la excreción urinaria de NAG en pacientes que reciben tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos¹¹⁹ o con ciclosporina,^{120,121} así como en la intoxicación por hidrocarburos,¹²² disolventes orgánicos,¹²³ metales pesados¹²⁴ y cadmio.¹²⁵

Estudios experimentales en ratas hipertensas expuestas a la acción tóxica de los hidrocarburos¹²⁶ o a la administración de contrastes yodados,¹²⁷ demuestran que la cuantificación urinaria de NAG es el marcador de lesión tubular renal precoz y más efectivo que la microalbuminuria y retinol-binding-protein.

5. Trasplante renal

El NAG, enzima presente en las células tubulares renales, se ha encontrado elevado en la orina de los pacientes con enfermedades renales,^{108, 128, 129} y en los que sufren rechazo después de un trasplante renal, como señaló Wellwood¹¹⁶ en 1973.

La orina de pacientes trasplantados muestra una actividad urinaria de NAG similar a la existente en sujetos sanos en cuanto a las proporciones de sus isoenzimas A (85 %) y B (10 %).¹³⁰ Cuando hay rechazo del riñón trasplantado, varía la proporción de estos isoenzimas y aparecen formas intermedias I1 e I2, descendiendo el componente A.

Esta variación en los isoenzimas del NAG es lo que Tucker¹⁰⁶ ha denominado como **orina patológica de los trasplantados**.

El rechazo se acompaña de episodios de isquemia tisular renal que ocasiona elevación del NAG.^{55, 131} Como ha señalado Corbett,¹³² este incremento del NAG es

muy precoz y puede comenzar 2-3 horas después de la cirugía, por lo que el NAG es considerado como el indicador más sensible del daño tubular renal¹⁰⁶ ante mínimos episodios de hipoxia.

Por lo tanto, el incremento del NAG urinario y la detección de formas intermedias (Isoenzimas I1 e I2) es el mejor indicador de daño tubular renal en el riñón trasplantado que sufre rechazo, siendo un parámetro mucho más útil que la creatinina sérica y la biopsia renal,¹³³ por lo que se utiliza en el seguimiento de estos pacientes, para un diagnóstico precoz de rechazo.

6. Nefropatía diabética

Uno de los retos más importantes de la nefropatía diabética desde el punto de vista médico es su identificación precoz a través de alteraciones bioquímicas.^{134,135} También han sido estudiados algunos enzimas urinarios con el fin de encontrar una correlación entre el grado de afectación renal y la enzimuria. Se ha visto que en la nefropatía diabética se altera la excreción urinaria de fosfatasa alcalina, leucín-aminopeptidasa, gamma-glutamyltranspeptidasa, etc.³⁸

Los enzimas lisosómicos se encuentran en sangre periférica y en todos los tejidos.¹³⁶ Son responsables de la escisión intracelular de macromoléculas complejas (glucoproteínas, glucolípidos y glucosaminoglicanos),¹³⁷ pero también degradan glucoconjugados de la membrana endotelial.¹³⁸ Están presentes en el plasma, interviniendo en múltiples procesos fisiológicos.¹³⁹ En diabetes mellitus, estos enzimas se han visto implicados en la patogenia de las complicaciones vasculares.^{136, 139}

Waters¹⁴⁰ ha estudiado siete enzimas fundamentales en el metabolismo glucoconjugado y que juegan un papel importante en la patogenia de la macro y microangiopatías diabéticas. El NAG es uno de ellos.

En otro trabajo, se ha estudiado el NAG plasmático en la diabetes mellitus tipo 1, y se ha observado que existe incremento de su actividad en aquellos pacientes con complicaciones de la misma con respecto a los que no las han desarrollado aún.¹⁴¹

Algunos autores aseguran que el NAG está implicado en el desarrollo de la microangiopatía de algunos diabéticos, junto a la beta-glucuronidasa, favoreciendo el depósito de mucopolisacáridos en los pequeños vasos.

El NAG urinario, en cambio, ha sido menos estudiado en los pacientes diabéticos. Se ha comprobado que su excreción desciende ligeramente durante el día y que puede modificarse con ciertos tratamientos.¹¹⁹

En función del grado de nefropatía existirá elevación de la excreción urinaria de NAG en estos pacientes, sin que se haya observado esta correlación con otros enzimas como la gamma-glutamyltranspeptidasa, fosfatasa alcalina, etc.^{64, 99} Sin embargo se ha encontrado correlación entre la transferrinuria y la excreción de NAG lo que sugiere que la función tubular está implicada.^{100, 142}

De acuerdo con los pocos estudios que existen, se puede concluir que el incremento de la excreción urinaria de NAG en la diabetes mellitus (fundamentalmente tipo 1), podría estar en relación con el grado de nefropatía diabética.^{143, 144}

El diagnóstico precoz de la nefropatía diabética debe ser un objetivo prioritario, lo que ha llevado a diversos autores a estudiar una serie de marcadores de daño renal en amplios grupos de pacientes diabéticos. Jung y cols.¹⁴⁵ han señalado la importancia de la determinación urinaria de NAG en el diagnóstico precoz de la enfermedad renal en los pacientes diabéticos. Todos los estudios incriminan al daño tubular renal como el responsable del incremento en la excreción de NAG en orina. En las células tubulares de ratas a las que se les ha provocado experimentalmente una diabetes mediante la administración de estreptozotocina, se han demostrado alteraciones histopatológicas tubulares.¹⁴⁶

Stolarek¹⁴⁷ y Koh¹⁴⁸ describieron una elevación en la actividad del NAG urinario en el 90 % de los pacientes diabéticos dependientes o no de insulina cuando presentaban albuminuria.

Algunos autores como Sánchez-Hueso¹⁴⁹ defienden que la elevación del NAG urinario en la diabetes mellitus indica solamente daño tubular y la presencia de microalbuminuria, daño glomerular.

En un estudio reciente se ha demostrado la correlación entre microalbuminuria y el NAG urinario en pacientes diabéticos no hipertensos.^{56, 150} Como el NAG interviene en la degradación de los glucoconjugados de la membrana basal glomerular, la hiperreactividad de este enzima en las fases precoces de la nefropatía diabética podría deberse a un incremento de su producción a nivel de la membrana capilar

glomerular, en lugar de una afectación tubular, que ocurre en las nefropatías avanzadas.^{151, 152}

Al mejorar la función glomerular gracias a la acción de ciertos fármacos inhibidores del enzima conversor de la angiotensina (ECA) como enalapril, ramipril, etc. disminuye la microalbuminuria y también la excreción urinaria de NAG.^{153, 154}

7. Hipertensión arterial

En la fase maligna de la hipertensión arterial, la lesión renal es especialmente significativa, sin embargo, la hipertensión benigna puede conducir al desarrollo de daño renal per se y complicar el curso de todas las enfermedades parenquimatosas renales que se acompañan de hipertensión.^{155, 156}

Existen múltiples indicadores bioquímicos de daño renal incipiente en la hipertensión arterial: hiperuricemia, microalbuminuria y excreción urinaria de beta-2-microglobulina y de N-acetil-beta-glucosaminidasa.

La alteración de la excreción urinaria de NAG en pacientes hipertensos fue descrita en 1978 por Mansell:¹⁵⁷ de los 137 enfermos que conformaron su grupo de estudio, encontró elevación de este enzima en el 64% de los casos, que presentaban alteraciones renales evidentes, pero también observó elevación del NAG en pacientes hipertensos sin manifestaciones clínicas de afectación renal.

Cinco años más tarde, Alderman⁴⁹ confirmó estos resultados y observó su evolución tras el tratamiento antihipertensivo, no encontrando diferencias en el comportamiento del NAG en relación con la edad, sexo o raza.

Otros autores, sin embargo encuentran ascenso del NAG urinario exclusivamente en los pacientes hipertensos con nefropatía evidente, siendo su comportamiento normal en la hipertensión arterial leve.^{158, 159}

En relación con el grado de hipertensión, hemos comprobado que la excreción urinaria del NAG se altera más precozmente que otros indicadores bioquímicos de lesión renal (ácido úrico y creatinina séricos y microalbuminuria). Esto nos sugiere la existencia de cambios histopatológicos tubulares en la nefropatía hipertensiva (atrofia tubular y

estenosis estromal progresiva),¹⁶⁰ aunque también puede reflejar una lesión del parénquima renal.⁹⁴

Se ha encontrado elevación del NAG urinario en la hipertensión por estenosis de la arteria renal,¹⁶¹ que se normaliza después de la cirugía.¹⁶²

En el curso de la hipertensión renovascular experimental, la elevación de diferentes enzimas en la orina indica daño tubular renal.^{163,164,165} Aunque el aumento de gamma-glutamiltanspeptidasa no muestra diferencias en relación al sexo o al peso del animal.¹²⁶

En la hipertensión arterial primaria en niños, Zoch-Zwierz¹⁶⁶ demuestra que la determinación del NAG puede ser de gran utilidad, reflejando un daño a nivel del túbulo proximal.

Estudios experimentales comprobaron que al administrar interferón a ratas hipertensas, se producía un descenso de los niveles de NAG urinarios con respecto a las no tratadas con dicho fármaco.¹⁶⁷

En pacientes hipertensos con nefropatía sometidos a tratamiento con betabloqueantes o con antagonistas del calcio, Schmieder y cols.¹⁶⁸ observaron que además de mejorar la albuminuria, se producía un descenso de la actividad urinaria de NAG.

La concentración urinaria de NAG sigue un curso paralelo a la albuminuria o al péptido C urinario en los pacientes con hipertensión arterial juvenil.¹⁶⁹

8. Otras

Existen más enfermedades renales en las que se altera la excreción urinaria de NAG, pero sin la significación clínica que poseen las que hemos comentado con anterioridad.

Se ha visto incremento del NAG tras la litotricia renal extracorpórea,¹⁷⁰ acidosis tubular renal,^{171,172} hipertrofia de próstata benigna⁸⁹ y en algunos tumores renales o vesicales malignos.^{91,173}

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Wolghemut J. Ubereine neue methode zur quantitative bestimmung des diastatischen ferments. *Biochem Z* 1980; 9: 1-27.
- ² Roslaci SB, Wilkinson JH. Urinary lactic dehydrogenase in renal disease. *Lancet* 1959; 2: 327-331.
- ³ Amelung D, Horn HD, Scheder E. Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Frage der Ferment Elimination aus dem Serum *Klin Wschr* 1968; 36: 963-967.
- ⁴ Blainey JD. The renal excretion of higher molecular weight substances. In: *Enzymes in Urine and Kidney*. Verlag. Hans. Huber. Bern und Stuttgart. 1967.
- ⁵ Chen YT. Type I glycogen storage disease: Kidney involvement pathogenesis and its treatment. *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 71-76.
- ⁶ Dietzma A, Hodges LK. Correlation of activities of the phosphatase of the urine and serum in normal and cirrhotic persons. *Clin Chim Acta* 1967; 15: 393-399.
- ⁷ Klaus D. Über aminopeptidase im menschlichen Organismus. III. Herkunft und elimination der serum-leucinaminopeptidase. *Arztl Forch* 1962; 16: 18-23.
- ⁸ Poortmans J, Jeanloz RW. Quantitative immunological determination of 12 plasmaprotein excreted in human urine collected before and after exercise. *J Clin Invest* 1968; 47: 386-388.
- ⁹ Zollinger HV. Niere in ableitende harnwege. En: Doerr W. *Spezielle pathologische anatomie*. Berling Springer Verlag 1966.
- ¹⁰ Carretero O, Scicli AG. Renal kallikrein: its localization and possible role in renal function. *Fed Proc* 1976; 35: 194-198.
- ¹¹ Dubach UC, Schmidt U. Enzymology of human kidney. A review with special consideration of the quantitative histochemistry. *Enzymol Biol Clin* 1970; 11: 32-37.
- ¹² Mattenheimer H. *Enzymes in urine and kidney*. Verlag. Hans. Huber. Bern. un Stuttgart. 1968.
- ¹³ Morita E, Kaizu K, Uriu K et al. Clinical significance of urinary enzymes in diabetic nephropathy. *J Diabet Complications* 1991; 5: 158-159.
- ¹⁴ Mattenheimer A, Adams EC. Quantitative determinations of hemoglobin in urine. I. The inhibitory effect of urine on the peroxidase-like activity of hemoglobin and horseradish peroxidase. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1967; 5: 48-62.

-
- ¹⁵ Josch W, Dubachu U, Strobel M. Der Einfluss des Urin-ph auf die Aktivitat von Urinezymen. *Experientia* 1967; 23: 342-347.
- ¹⁶ Jung K, Schulse G, Schoder K. Influence of pH on the activity of enzymes in urine at 37° C. *Clin Chem* 1982; 28: 1814-1816.
- ¹⁷ wilkinson JH. Diagnostic significance of enzyme determination in urine. In: Dubach UC. *Enzymes in urine and kidney*. Verlag. Hans Huber. Bern. und Stuttgart 1968.
- ¹⁸ Schonenberger GA, Walker WEC. Peptide inhibitor of lactic-dehydrogenase II. Isolation and characterization of peptides I and II. *Biochemistry* 1966; 5: 1375-1379.
- ¹⁹ Hillard S, O'Donnell JF, Schenker S. On the nature of the inhibitor of urinary alkaline phosphatases. *Clin Chem* 1965; 11: 570-575.
- ²⁰ Kushinki S, Chen VL. Urinary beta glucuronidase inhibitors. *Enzymol Biol Clin* 1967; 8: 226-270.
- ²¹ Courtois JE, Demelier J, Labat J, Hargreaves F. Separation et proprietes de la trehalase renal du porc. *Bull Soc Chin Biol* 1968; 50: 84-88.
- ²² Amodio P, Bazzera G, Malatesta R, Gatta A. Reference ranges and methodological aspects in the urinary measuring of lisozyme, Malate-Dehydrogenase, Gamma-Glutamyltransferase and Alfa-Glucosidase. *Enzyme* 1985; 33: 216-225.
- ²³ Amodio P, Malatesta R, Dalfollo M, Gatta A. Valori di riferimento e aspetti metodologici nel dossagio urinario del lisosima, malatodehidrogenasi, alfa-glucosidasi. *Progre Med Roma* 1984; 40: 147-154.
- ²⁴ Jung K, Schulse G, Reinhardt C. Different diuresis dependent excretions of urinary enzymes: N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, Alanine Aminopeptidase, Alkaline Phosphatase, and Gamma-Glutamyltransferase. *Clin Chem* 1986; 32: 529-532.
- ²⁵ Beck PB, Sammons HG. A stabilising factor for gamma-glutamyl-transpeptidase in urine. *Clin Chim Acta* 1975; 65: 351-359.
- ²⁶ Dorhman RE. *Beta-Glucuronidase*. Springer-Verlang. Berlin. 1969.
- ²⁷ Fishman WH. Beta glucuronidasa. Its relation to the action of the estrogenic hormones. *J Bio Chem* 1947; 169: 7-15.
- ²⁸ Thiele KG. Gamma-Glutamyl Transpeptidase Aktivitat im urin bei Gesunden und Nierenkranken. *Klin Wschr* 1973; 51: 339-344.

- ²⁹ Orłowski M. The role of gamma-glutamyl-transpeptidase in the internal disease clinic. *Arch Immunol Ther Exp* 1963; 11:1-10.
- ³⁰ Paigen-Kenneth, Paigen Janice Peterson. Coordinancy of lysosomal enzyme excretion in human urine. *J Clin Invest* 1978; 61: 751-762.
- ³¹ Caballo-Roig N, Yep Chumben G et al. Variación de la excreción de N-acetil- β -glucosaminidasa en el primer año de vida. *An Esp Pediatría* 1995; 4: 142-144.
- ³² Vanderjagt DJ, Steimberg BR, Glew RH. Comparison of urinary excretion of four lysosomal hidrolases in healthy elderly and young adults. *Clin Chim Acta* 1992; 210: 47-54.
- ³³ Salgo L, Szabo A. Gamma-transpeptidase activity in human urine. *Clin Chim Acta* 1992; 126: 9-16.
- ³⁴ Jung K, Hempel A, Gruzmann KD et al. Age dependent excretion of alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl-transferase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in human urine. *Enzyme* 1990; 43: 50-56.
- ³⁵ Maruhn D, Fusch Mues G, Bock KD. Normal limits of urinary excretion of eleven enzymes. *Clin Chem* 1976; 22:1567-1571.
- ³⁶ Houser MT. The effects of age and urine concentration on lysozyme and N-acetyl- β -D-glucosaminidase content in urine. *Ann Clin Biochem* 1986; 23: 297-302.
- ³⁷ Stalarek I, Howey Jackeline EA, Fraser CG. Biological variation of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase: Practical and clinical implications. *Clin Chim* 1989; 35: 560-563.
- ³⁸ Shirivastava KS, Awasthi YC, Yoshida A. Studies on human Beta-D-N-Acetylhexosaminidase. I. Purification and properties. *J Biol Chem* 1974; 249: 2043-2048.
- ³⁹ Hayashi M. Comparative histochemical localization of lysosomal enzymes in rat tissue. *J Histochem Cytochem* 1967; 15: 83-92.
- ⁴⁰ Ellis BG, Tucher SM, Thompson AE et al. Presence of serum and tissue forms of N-acetyl- β -D-glucosaminidase in urine from patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1975; 64:195-202.
- ⁴¹ Price RG, Dance N, Richards B et al. The excretion of N-acetyl- β -Glucosaminidase and galactosidasa following to the kidney. *Clin Chim Acta* 1970; 27: 65-72.
- ⁴² Lockwood TD, Bossman HB. The use of urinary N-acetyl- β -Glucosaminidase in human renal toxicology I. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979; 49: 323-336.

-
- ⁴³ Lockwood TD, Bossman HB. The use of urinary N-acetyl- β -Glucosaminidase in human renal toxicology II Toxicol Appl Pharmacol 1979; 49: 337-345.
- ⁴⁴ Lakatua MD, Blomquist P, Haus M et al. Circadian rhythm in urinary N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) of clinically healthy subjects. Am J Clin Pathol 1982; 78: 69-77.
- ⁴⁵ Koenig H, Goldstone A, Blume G et al. Testosterone-mediated sexual dimorphism of mitochondria and lysosomes in mouse kidney proximal tubules. Science 1980; 209: 1023-1026.
- ⁴⁶ Girolami JP, Bascands JL, Prévot D et al. Urinary output modulation of Alanine Aminopeptidase, Gamma-glutamyl transpeptidase, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase by castration and testosterone in male normal rat. Enzyme 1989; 41: 181-186.
- ⁴⁷ Malyusz M, Ehrens HJ. Effect of castration and testosterone substitution on the urinary output of gamma-glutamyl transpeptidase of male rats with renovascular hypertension. Enzyme 1983; 29: 93-99.
- ⁴⁸ Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. Clin Chem 1981; 27: 1180-1185.
- ⁴⁹ Alderman MH, Melcher L, Drayer DE, Reidenberg MM. Increased excretion of urinary N-acetyl- β -glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. N Eng Med J 1983; 309: 1213-1217.
- ⁵⁰ Glodman R. Aging of the excretory system. In Finch, CE, Hayflick, L. eds. Handbook of the biology of aging, New York. Van Nostrand Reinhold Co. 1977.
- ⁵¹ Beck LH. Kidney function and disease in the elderly. Hosp Pract 1988; 23: 75-90.
- ⁵² Lindeman RD. Longitudinal study on the rate of decline in renal function with age. J Am Ger Soc 1985; 33: 278-285.
- ⁵³ Whiting PH, Ross IS, Borthwick L. Serum and urine N-acetyl- β -D-Glucosaminidase in diabetics on diagnosis and subsequent treatment and stable insulin-dependent diabetics. Clin Chim Acta 1979; 92: 459-463.
- ⁵⁴ Jung K, Pergande M, Schreiber G et al. Stability of enzymes in urine at 37 ° C. Clin Chim Acta 1983; 13: 185-191.
- ⁵⁵ Hultberg B, Ockerman PA, Norden NE. Isoenzymes of four acid hydrolases in human kidney and urine. Clin Chim Acta 1974; 52: 239-243.

- ⁵⁶ Pérez Blanco FJ, Sabatel G, Cantero J et al. Actividad urinaria del NAG en el hipertenso diabético. V Reunión Andaluza Hipertensión Arterial. Marbella. 1995.
- ⁵⁷ Werner M, Heltbron DC, Maruhn D et al. Patterns of urinary enzyme excretion in healthy subjects. *Clin Chim Acta* 1970; 29: 437-449.
- ⁵⁸ Walker PG, Woolen ME, Pugh HD. N-acetyl-glucosaminidase activity serum during pregnancy. *J Clin Path* 1960; 13: 353-357.
- ⁵⁹ Wellwood JM, Price RG, Ellis BG et al. A note on the practical aspects of the assay on N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 69: 85-91.
- ⁶⁰ Strigini F, Melis GB, Gasperini M et al. Urinary excretion of N-acetyl- β -D-glucosaminidase and alanineaminopeptidase during pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet* 1989; 28: 9-12.
- ⁶¹ Kaufmann RA, Drugan A, Evans MI et al. First trimester maternal serum lysosomal enzymes. Implications for carrier testing and prenatal diagnosis. *Fetal Ther* 1989; 4: 161-165.
- ⁶² Goi G, Burlina AB, Bairati C et al. Enzymes of lysosomal origin in plasma of twin neonates. *Clin Chim Acta* 1993, 214: 161-165.
- ⁶³ Jung K, Schulze BD, Sydow K. Diagnostic significance of different urinary enzymes in patient suffering from chronic renal diseases. *Clin Chim Acta* 1987; 168: 287-295.
- ⁶⁴ Hultberg B, Ravinskov T. The excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase in glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1981; 15: 33-38.
- ⁶⁵ Yoshida M, Furiya K, Takakuwa H. Urinary excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase during normal pregnancy. *Clin Chim Acta* 1995; 223: 113-15.
- ⁶⁶ Minelli A, Danesino C, Lo Curto F ET AL. First trimester prenatal diagnosis of Sanfilippo disease (MPS III) type. *Prenat Diagn* 1998; 8: 47-52.
- ⁶⁷ Poenaru L, Mezard C, Akli S et al. Prenatal diagnosis of mucopolidosis type II on first trimester amniotic fluid. *Prenat Diagn* 1990; 10: 231-235.
- ⁶⁸ Ring E, Hofmann H, Erwa W et al. Amniotic fluid N-acetyl- β -glucosaminidase activity and renal abnormalities. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1147-1149.
- ⁶⁹ Agosti S, Assael BM, Masturzo P et al. N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) levels in amniotic fluid or urine in prenatal and postnatal life. *Early Hum Dev* 1996; 14: 229-230.
- ⁷⁰ Pachi A, Lubrano R, Maggi E et al. Renal tubular damage in fetuses with intrauterine growth retardation. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8: 109-113.

- ⁷¹ Perez Blanco FJ, Rodriguez Cuartero A, Sabatel G, Nuñez J. Urinary activity of N-acetyl- β -glucosaminidase in diabetic nephropaty. 12 th Congress European Association Internal Medicine. Alicante. 1994.
- ⁷² Waters PJ, Flynn MD, Corrall JM et al. Increased in plasma lysosomal enzymes in Type I diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992; 35: 991-995.
- ⁷³ Skrha J, Perusicova J, Sperl M et al. N-acetyl- β -glucosaminidase and albuminuria in normal and diabetic pregnancies. *Clin Chim Acta* 1989; 182: 281-287.
- ⁷⁴ Goi G, Burlina AB, Moreschi C et al. Enzymes of lysosomal origin in the serum of infants of diabetic mothers behavior in the first days after birth. *Acta Diabetol Lat* 1998; 25: 351-360.
- ⁷⁵ Goren MP, Sibai BM, El-Nazar A. Increased tubular enzyme excretion in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 906-908.
- ⁷⁶ Fabrizii V, Nowotny C, Dadak C et al. Tubulare Alterationenn bei normaler Graviditat und EPH-Gestose; Diagnose durch NAG. *Gynakol Rundsch* 1991; 31 Suppl 2: 178-180.
- ⁷⁷ Jacob M, Willfred G, Kanagasabapathy AS, Bbalasubramanian N. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase in the prediction of preeclampsia and pregnancy induced-hypertension. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 1993; 33: 395-397.
- ⁷⁸ Hultberg B, Isaksson A, Krtzen E, Nilson Ehle P. Urinary excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase in normal and complicated pregnancy. *J Clin Chem Biochem* 1989; 27: 487-489.
- ⁷⁹ Pérez-Blanco FJ, Huertas JM, Moreno Terribas G, Rodríguez Cuartero A. Urinary excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase in slight arterial hypertension during pregnancy. *Clin Investig* 1994; 74: 799.
- ⁸⁰ Van-Hekken DL, Eigel WN. Activity of lysosomal enzymes in murine mammary tissue trough pregnancy, lactation and involution. *J Dairy Sci* 1986; 69: 1811-1816.
- ⁸¹ Hurley WL, Grieve RC. Total and differential cell counts and N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity in sow milk during lactation. *Vet Res Commun* 1998; 12: 149-153.
- ⁸² Saad AM, Kaartinen L, Astrom G. Influence of exogenous estradiol on the concentration of antrypsin, albumin, N-acetyl- β -D-glucosaminidase and somatic cells in milk of cows at various lactation stages. *Zentralbl Veterinarmed (A)* 1990; 37: 51-60.
- ⁸³ Berning LM, Paape MJ, Miller RH, Ledane RA. N-acetyl- β -glucosaminidase activities, milk somatic cell counts, and blood leukocyte and erythrocyte counts in cows after heat induced

- stress or after intravenous administration of adrenocorticotrophic hormone. *Am J Vet Res* 1987; 48: 1157-1161.
- ⁸⁴ Nickerson SC, Thompson WJ, Oliver SP, Akers RM. Effects of intracisternal bead devices on lacteal secretion components, plaque formation, and bacterial infection during the nonlacting period. *Am J Vet Res* 1988; 49: 1205-1209.
- ⁸⁵ Saillenfait AM, Brondeau MT, Zissu D, De Ceaurriz J. Effects of prenatal methylmercury exposure on urinary proximal tubular enzyme excretion in neonatal rats. *Toxicology* 1989; 55: 153-160.
- ⁸⁶ Klein J, Koren G, McLeod SM. Comparison of methods for prediction of nephrotoxicity during development. *Dev Pharmacol Ther* 1992; 19: 80-89.
- ⁸⁷ Saillenfait AM, Payan JP, Brondeau MT et al. Changes in urinary proximal tubule parameters in neonatal rats exposed to cadmium chloride during pregnancy. *J Appl Toxicol* 1991; 11: 23-27.
- ⁸⁸ Gbank N, Bailine SH. Urinary b-glucuronidase activity in patients with urinary tract infection. *N Eng J Med* 1965; 272: 70.
- ⁸⁹ Shapiro A, Wellington P, Gonick H. Urinary b-glucuronidase in urologic diseases of the kidneys. *J Urol* 1968; 100: 146.
- ⁹⁰ Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, et al. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975; 3: 408-411.
- ⁹¹ Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, et al. Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl- β -glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics* 1978; 62: 751-760.
- ⁹² Sanders E, Coles GA, Davies M. Lysosomal enzymes in human urine. Evidence for polymorphonuclear leucocyte proteinase involvement in the pathogenesis of human glomerulonephritis. *Clin Sci Mol Med* 1978; 54: 667.
- ⁹³ Davies M, Barret AJ, Travis I, et al. The degradation of human glomerular basement membrane with purified lysosomal proteinases: Evidence for the pathogenic role of the polymorphonuclear leucocyte in glomerulonephritis. *Clin Sci Mol Med* 1978; 54: 233.
- ⁹⁴ Pylkkanen J, Vilska J, Koskimies O. The value of level diagnosis of childhood urinary tract infection in predicting renal injury. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70: 879-883.
- ⁹⁵ Vigano A, Cavanna G, Capodaglio P, et al. Methodological and clinical aspects of urinary N-acetyl-glucosaminidase in pediatric subjects. *Biochem Med* 1981; 25: 26-33.

- ⁹⁶ O'Brien JS. Tay-Sachs disease: from enzyme to prevention. *Fed Proc* 1973; 32: 191-199.
- ⁹⁷ Scott JES, Stansfield JM. Ureteric, reflux and kidney scarring in children. *Arch Dis Child* 1989; 43: 468.
- ⁹⁸ Smellie JM, Normand ICS. Experience of follow-up of children with urinary tract infection. En: F.O. Grady and W.Brumfit. *Urinary tract infection*. London: Oxford University Press; 1968: 123-125.
- ⁹⁹ Tolleston GL, Shannon FT, Utlely WLF, et al. Relationship of infantile vesico-ureteric reflux to renal damage. *Br Med J* 1970; 1: 460.
- ¹⁰⁰ Vigano A, Assael BM, Villa AD, et al. N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) and NAG isoenzymes in children with upper and lower urinary tract infections. *Clin Chim Acta* 1983; 130: 297-304.
- ¹⁰¹ Johnson CE, Vacca CV, Fattlar D, et al. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and the selection of children for radiologic evaluation after urinary tract infection. *Pediatrics* 1990; 86: 211-216.
- ¹⁰² Chan MK. N-acetyl- β - glucosaminidase in the localization of the site of urinary tract infections. *Singapore Med J* 1990; 31: 135-137.
- ¹⁰³ Pfau A, Ashkenazi A, SACK TG. The value of urinary β -glucuronidase activity in the assessment of urinary tract infections. *Isr J Med Sci* 1968; 4: 1249.
- ¹⁰⁴ Wilson D, Weinstein A, Hall P, et al. Early indicators of aminoglycoside nephrotoxicity. *Clin Pharmacol Ther* 1979; 25: 253-254.
- ¹⁰⁵ Gudder WG, Ross BD. Enzyme distribution along the nephron. *Kidney Int* 198 ; 26: 101-111.
- ¹⁰⁶ Tucker SM, Pierce RJ, Pierce RC. Characterization of human N-acetyl- β -D-glucosaminidase isoenzymes as an indicators of tissue damage in disease. *Clin Chim Acta* 1980; 102: 29-40.
- ¹⁰⁷ Hofmeister R, Bhargana AS, Gunzel P. The use of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) for the detection of contrastmedia- induced osmotic nephrosis in rats. *Toxicol Lett* 1990; 50: 9-15.
- ¹⁰⁸ Dance S, Price RG, Cattel WR, et al. The excretion of N-acetyl- β -glucosaminidase and β -galactosidase by patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1970; 27: 87-92.
- ¹⁰⁹ Sackhee K. Postmenopausal osteoporosis as a manifestation of renal hypercalciuria with secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 368-371.

- ¹¹⁰ Shan J, Benishin CG, Le Wanczuck CR, Pang PK. Mechanism of the vascular action of parathyroid hypertensive factor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 23: (suppl. 2) S1-S8.
- ¹¹¹ Ferranini E, Buzzigovi G, Bonadonna R, GIORICO MA. Insulin resistance in essential hypertension. *N Eng Med J* 1987; 317: 350-357.
- ¹¹² Campese VH. Salt sensitivity in hypertension: renal and cardiovascular implications. *Hypertension* 1994; 23: 531-550.
- ¹¹³ Cronin RE. Aminoglycoside nephrotoxicity: pathogenesis and prevention. *Clin Nephrol* 1979; 11: 215-256.
- ¹¹⁴ Garry F, Chew DJ, Hoffsis GF. Enzymuria as an index of renal damage in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. *Am J Vet Res* 1990; 51: 428-432.
- ¹¹⁵ Kahlmeter G, Haalberg D, Kamme C. Gentamicin and tobramycin in patients with various infections-nephrotoxicity. *J Antimicrob Chemother* 1975; 4 (suppl. A): 47.
- ¹¹⁶ Welwood JM. Early warning of rejection. *Br Med J* 1973; 2: 261-265.
- ¹¹⁷ Gibey R, Dupond JL, Alber D, et al. Predictive value of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), alanine-aminopeptidase (AAP) and β -2-microglobulin (β 2 M) in evaluating nephrotoxicity of gentamicin. *Clin Chim Acta* 1981; 116: 25-34.
- ¹¹⁸ Fillastre JP, Godin M. Drugs in the uraemic patient. Causes of deterioration in renal function. En: *Séminaires d'Uronéphrologie. Pitié Salpêtrière (Küs R, Legrain M. eds.)* París: Masson; 1980: 149-172.
- ¹¹⁹ Zafirouska KG, Bogdanouska SV. Urinary excretion of three specific renal tubular enzymes in patients treated with non-steroidal antiinflammatory drugs. *Ren Fail* 1993; 15: 51-54.
- ¹²⁰ Brown DM, Charonis AS, Furcht LT, et al. An overview of role of matrix components. *Diabetes Care* 199; 14: 157-159.
- ¹²¹ Burdmann EA, Andoh TF, Rosen S, et al. Experimental nephrotoxicity, hepatotoxicity and pharmacokinetics of cyclosporin G versus cyclosporin A. *Kidney Int* 1994; 45: 684-691.
- ¹²² Yagoob M, Bell GM, Stevenson A, et al. Renal impairment with chronic hydrocarbon exposure. *Q J Med* 1993; 86: 165-174.
- ¹²³ Grueuer N. Early detection of changes in kidney function in workers exposed to solvents and heavy metals. *Isr J Med Sci* 1992; 28: 605-607.

- ¹²⁴ Kawada T, Tohyama C, SUZUKI S. Significance of the excretion of urinary indicator proteins for a low level of occupational exposure to cadmium. *Int Arch Occup Environ Health* 1990; 62: 95-100.
- ¹²⁵ Staessen J, Lauwerys R. Health effects of environmental exposure to cadmium in a population study. *J Hum Hypertens* 1993; 7: 195-199.
- ¹²⁶ Hotz P, Pilliod J, Bernard A, et al. Hydrocarbon exposure, hypertension and kidney function tests. *Int Arch Occup Environ Health* 1990; 60: 501-508.
- ¹²⁷ Wrigge P, Malyusz M. Enzymurie nach Kontrastmittelgabe bei hypertonen Ratten. *Röntgenblätter* 1988; 41: 332-335.
- ¹²⁸ Chew SL, Lins RL, Daelemans R, et al. Urinary enzymes in acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 507-511.
- ¹²⁹ Solowicz W, Hanicki Z, Lisiewicz J. Acid phosphatase, β -glucuronidase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity of peritoneal neutrophils in patients with terminal renal failure treated by intermittent peritoneal dialysis. *Nippon Ketsueki Gakkai: Zasshi* 1990; 53: 70-75.
- ¹³⁰ Price RG. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) as an indicator of renal damage. En: Dubach, UC Schmidt U eds. *Diagnostic significance of enzymes and proteins in urine*. Bern; Hans Huber. 1979; 150-163.
- ¹³¹ Sandman R, Margules RM, Kounts SL. Urinary lysosomal glycosidases after renal allotransplantation: Correlation of enzyme excretion with allograft rejection and ischemia. *Clin Chim Acta* 1973; 45: 349-352.
- ¹³² Corbett CRR. Urinary enzyme excretion after transplantation and other surgical operations. Cambridge University M Chir. Thesis 1980.
- ¹³³ Ellis RB, Ikonne JU, Masson PK. DEAE-Cellulose microcolumn chromatography coupled with automated assay: application to the resolution N-acetyl- β -D-hexosaminidase components. *Anal Biochem* 1975; 63: 5-11.
- ¹³⁴ Viberti GC, Wiseman MJ. The kidney in diabetes: Significance of the early abnormalities. *Clin Endocrinol Metab* 1986; 15:753-782.
- ¹³⁵ Wiseman MJ, Viberti GC, Keen H. Threshold effect of plasma glucose in the glomerular hyperfiltration of diabetes. *Nephron* 1984; 38: 257-260.
- ¹³⁶ Lombardo A, Caimi L, Marchesini S, et al. Enzymes of lysosomal origin in human plasma and serum: assay conditions and parameters affecting the assay. *Clin Chim Acta* 1980; 180: 337-346.

- ¹³⁷ Pennock CA. Lysosomal storage disorders. En: Holton, JB (ed). The inherited metabolic diseases. Churchill Livingstone, London. 1987; 59-95.
- ¹³⁸ Gorog P, Pearson JD. Sialic acid moieties on surface glycoproteins protect endothelial cells from proteolytic damage. *J Pathol* 1985; 146: 205-212.
- ¹³⁹ Kelly L, Woodward SH. Alterations in the activities of lysosomal glycosidases in human diabetes. *Med Sci Res* 1988; 16: 491-496.
- ¹⁴⁰ Waters PJ, Flynn MD, Corrall RJM, et al. Increases in plasma lysosomal enzymes in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: Relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetología* 1992; 35: 991-995.
- ¹⁴¹ Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978; 1: 168-188.
- ¹⁴² O'Donnell MJ, Watson J, Martin P, et al. Transferrinuria in type 2 diabetes. The effect of glycaemic control. *Ann Clin Biochem* 1991; 28: 174-178.
- ¹⁴³ Goi G, Fabi A, Lorenzi R, et al. Serum enzymes in lysosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glycated hemoglobin and albumin. *Acta Diabetol Lat* 1986; 23: 117-125.
- ¹⁴⁴ Tchobroutsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetología* 1978; 15: 143-152.
- ¹⁴⁵ Jung K, Pergande M, Schimke E, et al. Urinary enzymes and Low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic Nephropathy *Clin Chem* 1988; 34: 544-547.
- ¹⁴⁶ Grotsch H, Hropot M, Kief H, et al. Enzymuria in streptozotocin-diabetic rats. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 533-539.
- ¹⁴⁷ Stolarek I, Howey Jea, Fraser C. Biological variation of urinary N-acetyl- β -glucosaminidase. Practical and clinical implications. *Clin Chem* 1989; 35 (4): 560-563.
- ¹⁴⁸ Koh KT, Chia KS, Tan C. Proteinuria and enzymuria in non-insulin-dependent diabetics. *Diabetes Res Clin Pract* 1993; 20: 215-221.
- ¹⁴⁹ Sanchez Hueso NC, Mateo Cañas J, Zamora Madaria E. Influencia del control glucémico y la nefropatía diabética incipiente sobre la excreción urinaria de N-acetil-glucosaminidasa (NAG) en la diabetes mellitus. *An Med Intern* 1995; 12: 216-220.

- ¹⁵⁰ Pérez Blanco FJ, Sabatel G, Rodríguez Cuartero A, Núñez Carril J. Actividad del N-acetil- β -glucosaminidasa en la nefropatía diabética. III Reunión Andaluza Hipertensión arterial. Granada 1993.
- ¹⁵¹ Ratzmann KP, Schimke E, Jung K, et al. Further evidence for tubular dysfunction in insulin dependent diabetes. *J Diabet Complications* 1989; 3: 167-171.
- ¹⁵² Wakisa KAM, Numoi K, Iwase M, et al. Early development of nephropathy in a new model of spontaneously hypertensive rat with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetología* 1988; 31: 291-296.
- ¹⁵³ Jungmann E, Kruger K, Semler B, et al. Nephroprotektive Wirkung von Ramipril. Einfluss von Blutdruck-und Stoffwechse-leinstellung bei Insulin-behandelten patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus. *Fortschr Med* 1994; 112: 39-42.
- ¹⁵⁴ Holdaas H, Hartmann A, Berg KJ, et al. Contrasting effects of angiotensin converting inhibitor and alpha-1-antagonist on albuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus patients with nephrophaty. *J Intern Med* 1995; 237: 63-71.
- ¹⁵⁵ Brazy PC, Stead WW, Fitzwilliam JF, et al. Progression of renal insuficiency: role of blood pressure. *Kidney Int* 1989; 35: 670-674.
- ¹⁵⁶ Heptinstall RH. Hypertension I. Essential hypertension. En: Heptinstall RH. *Pathology of the kidney*. Boston: Little Brown. 1992; 951-1028.
- ¹⁵⁷ Mansell MA, Ziroyannis PN, Jones NF. N-acetyl- β -D-lucosaminidase: a nex approach to the screening of hypertensive patients for renal disease. *Lancet* 1978; 2: 803-805.
- ¹⁵⁸ Persichetti S, Clemenzia G, Laterza G, et al. Confronto tra le attività urinaria e sierica del NAG in soggetti affetti da nefropatie croniche e da ipertensione arteriosa essenziale. *Minerva Medica* 1990; 81: 265-270.
- ¹⁵⁹ Wellwood JM, Price RG, Ellis BG, et al. A note on the practical aspects of the assay on N-acetyl- β -D-glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 69: 85-91.
- ¹⁶⁰ Blythe WB, Maddux F. Hypertension as a causative diagnosis of patientes entering and stage renal disease programs in the United States from 1980 to 1986. *Am J Kid Dis* 1991; 1: 33-37.
- ¹⁶¹ Stener G, Weibull H, Hultberg B, et al. Determination of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase in patientes with hypertension and renal artery stenosis. *J Intern Med* 1993; 234: 281-285.

- ¹⁶² Holmes RP, Craddock G, Espeland MA, et al. A lack of coordination in the release of urinary lysosomal and brush border enzymes following renovascular surgery. *Clin Chim Acta* 1989; 186: 1-9.
- ¹⁶³ Szasz G. Gamma-glutamyl-transpeptidase-aktivität im urin. *Z Klin Chem* 1970; 8: 1-8.
- ¹⁶⁴ Tate SS, Toss E. Human Kidney gamma-glutamyl transpeptidase: catalytic properties, subunit structure, and localisation of the gamma-glutamyl binding site on the light subunit. *J Bio Chem* 1977; 252: 6042-6045.
- ¹⁶⁵ Braun JP, Rico AG, Benard P, et al. La gamma-glutamyl transferase urinaire en toxicologie renale chez le rat. Bases de son utilisation-intérêt lors de néphrite aiguë mercurielle. *Toxicology* 1978; 11:73-82.
- ¹⁶⁶ Zock-Zwierz W, Winięcka W, Tomaszewska B, et al. Ocena aktywności N-acetylo-β-D-glukozaminidazy i jej isoenzymów w moczu dzieci z nadciśnieniem pierwotnym i wtórnym. *Wiad Lek* 1992; 45: 498-502.
- ¹⁶⁷ Ishimitsu T, Nehara Y, Numabe A, et al. Interferon gamma attenuates hypertensive renal injury in salt-sensitive Dahl rats. *Hypertension* 1992; 19: 804-808.
- ¹⁶⁸ Schmieder RE, Ruddle H, Schiebush H, et al. Impact of antihypertensive therapy with isradipine and metoprolol on early markers of hypertensive nephropathy. *Am J Hypertens* 1992; 5: 318-321.
- ¹⁶⁹ Narkiewicz K, Rynkiewicz A, Fumanski J, et al. Increased urinary c-peptide and albumin excretion in juvenile borderline hypertension. *Blood Press* 1993; 2: 272-277.
- ¹⁷⁰ Barak M, Ginesin Y, Hornstein L, et al. Excretion of urinary protein induced by extracorporeal piezoelectric lithotripsy. *Br J Urol* 1990; 66: 575-580.
- ¹⁷¹ Guignard JP, Sulyok E, Györke Z. Urinary excretion of N-acetyl-β-D-glucosaminidase in children with NH₄Cl metabolic acidosis. *Acta Paediatr Scan* 1990; 79: 1116-1117.
- ¹⁷² Sinaniotis CA, Konkoutsakis P, Pyridis P. Estimation of urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity for monitoring therapy of distal renal tubular acidosis. *Acta Paediatr Scan* 1989; 78: 453-454.
- ¹⁷³ Perez Blanco FJ, Ruiz Martin A, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J. Urinary activity of N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) in arterial hypertension. *Clin Nephrol* 1996; 45: 65-66.

Glucación no enzimática de proteínas

I. DIABETES MELLITUS, CONTROL METABÓLICO DE LA DIABETES, GLUCACIÓN, HEMOGLOBINAS

La importancia actual de la determinación de los parámetros de glucación proteica en el control metabólico de la diabetes mellitus está fuera de toda duda y forma parte del quehacer cotidiano de clínicos y bioquímicos implicados en el tratamiento y seguimiento de pacientes diabéticos. La relación entre la hiperglucemia crónica y el desarrollo y progresión de las complicaciones diabéticas cada vez parece más clara,¹ y de ahí la necesidad de contar con índices objetivos de control glucémico en el paciente diabético. Por otro lado, en los últimos años se han producido importantes avances en lo que respecta a técnicas de determinación de proteínas glucadas y productos finales de glucación avanzada (PFGA), y se ha demostrado la participación de estas sustancias en la patogenia de algunas de las complicaciones a largo plazo de la diabetes. Todo ello ha generado un notable incremento de nuestro conocimiento sobre la génesis y desarrollo de las complicaciones tardías de la diabetes y ha abierto nuevas perspectivas de intervención terapéutica en pacientes diabéticos.

En el presente trabajo revisamos los aspectos más relevantes de la glucación no enzimática de proteínas, resaltando la importancia de las proteínas glucadas en el control metabólico del paciente diabético y su participación en la patogenia de las complicaciones tardías de la diabetes.

II. QUÍMICA DE LA GLUCACIÓN

La glucación no enzimática es una reacción de condensación entre un hidrato de carbono y grupos amino libres en el extremo N-terminal de las proteínas (valina) o en el grupo ϵ -amino de los residuos de lisina de las proteínas. La reacción se inicia mediante la unión del grupo aldehído (CHO) de la glucosa acíclica al grupo amino (NH_2) proteico, lo que da lugar a una aldimina o base de Schiff, la cual es fácilmente disociable. La aldimina sufre un proceso de reordenación química denominado reordenación de Amadori, lo que genera un derivado 1-amino-1-desoxifruktosa (cetoamina), que es estable y prácticamente no disociable. Este compuesto puede adoptar una estructura cíclica. La reacción de glucación, que puede tener lugar tanto in vivo como in vitro, es una modificación postsintética de las proteínas y no requiere el concurso de ninguna enzima. El prototipo de glucación con mayor importancia clínica

lo constituye la reacción entre la glucosa y la hemoglobina, aunque otras proteínas y otros azúcares también la pueden experimentar.

El término glucosilación se emplea para cualquier azúcar en general, mientras que glucosilación se refiere específicamente a la condensación de glucosa con una proteína. En el presente trabajo, siguiendo las recomendaciones de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada-Unión Internacional de Bioquímica (IUPAC-IUB), evitaremos los términos glycosilación y glucosilación, y emplearemos preferentemente el término glucación para referirnos a la unión no enzimática de la glucosa a las proteínas.²

La glucación de la hemoglobina da lugar a varios compuestos con diferente estructura, siendo el más importante cuantitativamente y el de mayor trascendencia clínica la hemoglobina A_{1c} . Ésta es idéntica a la hemoglobina A, a la que se ha unido una molécula de glucosa al residuo amino de la valina terminal de la cadena beta. Su formación tiene lugar de una forma lenta pero irreversible a lo largo de toda la vida del hematíe. Previamente a la generación de la cetoamina estable, se sintetiza una base de Schiff lábil denominada «pre- A_{1c} ». Otros compuestos derivados de la glucación a la hemoglobina son las fracciones A_{1a1} , A_{1a2} y A_{1b} . La estructura de la hemoglobina A_{1b} no se conoce completamente, aunque puede originarse por desamidación de la hemoglobina A o constituir una modificación postsintética de la hemoglobina A_{1c} .³ Aparte de las fracciones mencionadas, la hemoglobina puede glucarse en otros lugares diferentes del extremo N-terminal de la cadena beta, tales como el extremo N-terminal de la cadena α y los residuos amino de la lisina en ambas cadenas peptídicas, sin embargo, a diferencia de la hemoglobina A_{1c} , estos compuestos no dan lugar a cambios en la carga.

Diversos factores influyen cuantitativamente en la glucación de proteínas in vivo. Sin duda el más importante de ellos es la duración y el grado de la hiperglucemia y en esto se basa la utilidad clínica de la determinación de la hemoglobina A_{1c} en el control metabólico de la diabetes como veremos posteriormente. Pero también hay que tener en cuenta otros factores. La vida media de las proteínas circulantes, así como la permeabilidad de los tejidos a la glucosa, influyen en el grado de glucación en virtud de un mayor o menor tiempo de exposición proteica a las elevadas concentraciones de glucosa. Las proteínas de vida media más larga y los tejidos que no requieren insulina para el transporte de glucosa, como el eritrocito, presentan mayores tasas de

glucación.⁴ El número de grupos amino libres también afecta a la cuantía de la glucación; sin embargo, la reactividad de estos grupos no es uniforme, ya que depende de su pK y su accesibilidad en el seno de la estructura proteica. Por ejemplo, en la hemoglobina humana el grupo amino más reactivo es el terminal de la cadena beta, sin embargo, otros grupos amino tales como los residuos de lisina de las cadenas α y β y la valina N-terminal de la cadena alfa, también experimentan glucación en menor cuantía. Además, la desoxihemoglobina es glucada más rápidamente que la oxihemoglobina, lo que sugiere que la glucación de la valina N-terminal de la cadena β se influye por cambios conformacionales de la proteína y cambios locales en la carga.⁵

La cetoamina estable formada por la unión de la glucosa con un grupo amino proteico puede experimentar una serie de reacciones químicas de deshidratación, hidrólisis y reordenación y polimerización, dando lugar a unos compuestos conocidos como melanoidinas. Estas reacciones, conocidas desde principios de siglo, reciben el nombre de reacciones de Maillard o de oscurecimiento (browning), por el color que toman los compuestos finales. Inicialmente los productos finales de glucación avanzada (PFGA) fueron estudiados en la industria de los alimentos y en estudios in vitro pero actualmente se investiga su participación, tanto en el proceso de envejecimiento como en la génesis de algunas complicaciones de la diabetes, como se menciona posteriormente.⁶

III. TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN

Se mencionan a continuación las características principales de los métodos analíticos de cuantificación de las proteínas glucadas, especialmente la hemoglobina, que el clínico debe conocer a la hora de evaluar el control metabólico de los pacientes diabéticos. No se describen con detalle los métodos analíticos, ya que no es éste el objetivo de esta revisión.

A. CUANTIFICACIÓN DE LA HEMOGLOBINA GLUCADA

La hemoglobina en su forma glucada se puede cuantificar como glucohemoglobina total, como fracción glucada en el extremo betaaminoterminal (A_1) o su mayor subfracción (A_{1c}).⁷

Existe un gran número de métodos válidos para la cuantificación de la hemoglobina glucada que se diferencian en el principio de separación de la fracción glucada, así como en la posibilidad de valorar una o más especies glucadas.^{8,9,10,11,12,13} La falta de calibradores adecuados, así como las diferentes características analíticas de los métodos, explican la disparidad de los resultados obtenidos entre los diferentes grupos.^{14, 15}

La cromatografía líquida de alta resolución y la electroforesis separan la fracción A₁ o A_{1c} del resto de las hemoglobinas, debido a la mayor carga positiva que presentan éstas respecto a la hemoglobina A, a pH neutro. La cromatografía de afinidad permite separar la fracción glucada total del resto de las hemoglobinas debido a la presencia de grupos cisdiol en las moléculas de hemoglobina que se han glucado y que tienen la capacidad de reaccionar con el ácido borónico contenido en la columna cromatográfica. Dentro de los métodos inmunoquímicos se encuentran todos aquellos que separan las formas glucadas y no glucadas de la hemoglobina por sus diferencias antigénicas, es decir, los que incluyen la utilización de anticuerpos frente a algún epítipo de la molécula de la glucohemoglobina. Los distintos métodos inmunoquímicos difieren en el anticuerpo utilizado y en la forma de valorar la unión antígeno-anticuerpo. Todos los métodos presentan ventajas e inconvenientes, ya que ciertos factores, pueden influir en la obtención de los resultados. Cada uno de ellos puede cuantificar fracciones diferentes, por lo que cada laboratorio debe establecer sus límites de normalidad. Si se utilizan métodos basados en la diferencia de carga, se debe eliminar la fracción lábil o pre-A_{1c}, ya que ésta puede conducir a resultados falsamente más elevados, sobre todo, en diabéticos inestables.

Las variantes de la hemoglobina pueden influir en la cuantificación de la hemoglobina glucada. La hemoglobina F interfiere con la hemoglobina A₁ en la electroforesis, al igual que las variantes positivas S y C. En la cromatografía de intercambio iónico aparecen picos característicos que hay que tener en cuenta para calcular los resultados. En los métodos inmunoquímicos, el anticuerpo no reconoce las variantes genéticas de la hemoglobina y, por lo tanto, la fracción glucada puede estar infravalorada, ya que la hemoglobina A representa una fracción menor de lo habitual. Por otro lado, las fracciones de la hemoglobina unidas a restos diferentes de la glucosa como consecuencia del consumo de alcohol o aspirina (acetilada) o la presencia de concentraciones elevadas de urea (carbamilada) pueden conducir a

valores falsamente elevados de la hemoglobina A₁ cuando se cuantifica específicamente esta fracción por métodos cromatográficos o electroforéticos.

B. CUANTIFICACIÓN DE ALBÚMINA Y PROTEÍNAS PLASMÁTICAS GLUCADAS

Para la cuantificación de la albúmina glucada y las proteínas plasmáticas glucadas se han empleado métodos colorimétricos, como el del ácido tiobarbitúrico,¹⁶ y métodos cromatográficos, como la cromatografía de afinidad.^{17, 18, 19} En este último método, la distinción entre albúmina y proteínas totales puede realizarse mediante el empleo de diferentes reactivos, de modo que la cuantificación de la glucación tanto en las proteínas totales como en la albúmina puede obtenerse de una única muestra aplicada a la columna de afinidad. Por lo general existe una buena correlación entre los valores obtenidos por cromatografía y por colorimetría. Un método fluorométrico descrito más recientemente para la determinación de la albúmina glucada también presenta una buena correlación con la determinación obtenida por cromatografía de afinidad.²⁰

Se denomina fructosamina de forma genérica a aquellas proteínas que tras su glucación presenten restos 1-amino-1-desoxifruktosa. El análisis colorimétrico de la fructosamina sérica se ha desarrollado como un método rápido de cuantificación de las proteínas séricas glucadas. Se basa en la capacidad de la glucosa unida a proteínas para reducir el nitroazul de tetrazolio con la consiguiente modificación de la densidad óptica.^{21,22} Las principales ventajas de la determinación de fructosamina incluyen su simplicidad técnica, su posible automatización y la existencia de equipos estándar fiables para su determinación.^{23, 24, 25}

IV. APLICACIONES CLÍNICAS

A. DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES

Los parámetros bioquímicos de la glucación proteica no han sustituido a las determinaciones de glucemia para el diagnóstico de la diabetes. Ello es así porque ni la glucohemoglobina ni las proteínas o albúmina glucadas presentan mayor sensibilidad o especificidad que las determinaciones glucémicas en el diagnóstico de este trastorno metabólico.^{26,27} Una franca hiperglucemia basal o una sobrecarga oral de glucosa positiva cuando la hiperglucemia basal no es superior a 140 mg/dl son demostrativos de la existencia de diabetes mellitus según los criterios universalmente

aceptados.²⁸ En los pacientes que presentan estos criterios, la objetivación de unas cifras elevadas de glucohemoglobina no añade más que la constatación de una hiperglucemia mantenida durante las semanas previas a la realización de las pruebas diagnósticas.

Aunque se ha demostrado una correlación entre los valores de hemoglobina glucada y el área bajo la curva de glucemia en una sobrecarga oral de glucosa, no debe utilizarse el valor de la glucohemoglobina para distinguir entre la población normal y los sujetos con diabetes, ya que su determinación no ofrece ninguna ventaja sobre la cuantificación de los valores de glucemia obtenidos en una sobrecarga oral de glucosa y, además, existe un solapamiento entre los valores de glucohemoglobina obtenidos en individuos normales y en pacientes con sobrecarga oral de glucosa patológica.^{26,29,30,31,32,33} Por estos motivos no parece razonable emplear la cuantificación de la glucohemoglobina como prueba de cribado en programas de detección de diabetes. En un estudio piloto se ha empleado la detección de proteínas glucadas, estimadas por la fructosamina sérica, como prueba de cribado de la diabetes en la población anciana. Los resultados mostraron que una única determinación de fructosamina podría ser útil para la detección en este grupo de población.³⁴

B. CONTROL METABÓLICO DE LA DIABETES

Los resultados del estudio realizado sobre el control y las complicaciones de la diabetes (DCCT) han establecido claramente la relación entre el control metabólico a largo plazo y el desarrollo y progresión de las complicaciones específicas de la diabetes mellitus, de ahí la importancia de disponer de métodos objetivos de control metabólico. Este estudio demostró que el tratamiento intensivo (tres o más inyecciones de insulina o la utilización de bomba insulínica) de la diabetes insulino dependiente resultó ser más efectivo que el tratamiento conservador (una o 2 inyecciones de insulina) en cuanto a la aparición y progresión de las complicaciones vasculares y neurológicas iniciales. Como cabía esperar, los valores medios de la hemoglobina glucada fueron significativamente inferiores en el grupo tratado de forma intensiva con respecto al grupo tratado de forma conservadora.¹

La cantidad de hemoglobina glucada refleja de forma integrada la concentración de glucosa en el eritrocito a lo largo de un período de tiempo de 4-8 semanas. Este

fenómeno sustenta la incuestionable utilidad de la determinación de la glucohemoglobina como un estimador cuantitativo y objetivo del control metabólico en el período de tiempo mencionado en pacientes con diabetes mellitus. Hoy día^{35, 36, 37, 38} está fuera de toda duda la utilidad clínica de la determinación de hemoglobina glucada en el seguimiento y control a largo plazo de los pacientes con diabetes tanto de tipo 1 como de tipo 2.

Son muchos los estudios que se han realizado en los que se observa la correlación entre las cifras de glucohemoglobina y los parámetros clásicos de control metabólico en pacientes diabéticos. Los perfiles glucémicos se realizaron entre una y dos veces por semana durante el período de 8 semanas previas a la determinación de la hemoglobina glucada. Resultados similares han sido hallados también por diversos autores,³⁹ aunque algunos⁴⁰ encuentran una buena correlación entre las cifras de glucohemoglobina y las glucemias basales en diabéticos tipo 2.

Al tratarse de un parámetro objetivo, la determinación de glucohemoglobina evita algunos de los inconvenientes inherentes al autocontrol con tiras reactivas, tales como la incapacidad del paciente para realizar el autoanálisis, una mala técnica o problemas con los reflectómetros y alteración de los resultados por parte del paciente por temor o deseo de agradar a su médico. Además, un paciente puede presentar unas glucemias basales normales en sus análisis de control, junto con unas grandes excursiones posprandiales que no se verán reflejadas en la determinación analítica. En estos casos la objetivación de una glucohemoglobina elevada deberá alertar al clínico sobre la presencia de un peor control metabólico que el estimado solamente por la glucosa basal.

Las proteínas séricas, especialmente la albúmina, presentan una vida media notablemente inferior a la del hematíe, por esto la determinación de la albúmina glucada o de las proteínas totales glucadas aporta información sobre el control glucémico del paciente diabético a corto plazo, durante un período de tiempo de una a 2 semanas.^{41, 42, 43, 44, 45, 46} Los cambios en el control metabólico se traducen, por tanto, de forma más rápida en la modificación de las proteínas glucadas que en cambios en la glucohemoglobina.⁴³ Este hecho explica por qué algunos pacientes ante situaciones de descompensación aguda pueden presentar elevación de sus cifras de proteínas glucadas, mientras que sus valores de glucohemoglobina aún no se han elevado. De forma análoga, pacientes que se recuperan de una cetoacidosis presentarán

normalización o descenso de sus cifras de proteínas glucadas antes que de sus valores de glucohemoglobina. Es necesario conocer esta relación temporal de los diferentes estimadores de glucación proteica, ya que la información obtenida con cada uno de ellos es distinta.

La cuantificación de la glucoalbúmina o las proteínas totales glucadas tiene la ventaja sobre la determinación de glucohemoglobina de ser útil en pacientes que presentan anemia hemolítica, hemoglobinopatías o transfusiones sanguíneas recientes. No obstante, la cuantificación de proteínas glucadas, aunque útil, no sustituye a la glucohemoglobina en el seguimiento rutinario de pacientes diabéticos.

C. DIABETES Y EMBARAZO

La determinación de la glucohemoglobina constituye un excelente parámetro de seguimiento de la gestante diabética. Un aumento de sus valores traduce una hiperglucemia durante las semanas previas y por tanto es un índice de las posibles complicaciones materno-fetales que pueden alterar el curso de la gestación. Generalmente las concentraciones de glucohemoglobina se reducen a lo largo de la gestación en mujeres diabéticas, probablemente debido a la mejoría del control metabólico de la gestante.⁴⁷

Durante el primer trimestre, una elevación de las concentraciones de glucohemoglobina como expresión de un mal control metabólico de la gestante diabética se ha asociado con bajo peso fetal y con un aumento de la frecuencia de malformaciones congénitas.^{48, 49} Es bien conocido también que la hiperglucemia mantenida en el tercer trimestre se traduce en un aumento de la transferencia materno-fetal de glucosa y otros metabolitos y que esto estimula la secreción de insulina por el páncreas fetal, lo que finalmente, induce macrosomía. Se ha encontrado una correlación positiva entre los valores de glucohemoglobina en el tercer trimestre y el índice ponderal fetal en gestantes diabéticas de clases B y C. Sin embargo, esta correlación se volvía negativa cuando se consideraban las gestantes diabéticas con complicaciones microvasculares.⁵⁰

D. CUÁNDO REALIZAR DETERMINACIONES DE HEMOGLOBINA GLUCADA

Las determinaciones periódicas de glucohemoglobina proporcionan una valoración objetiva del control glucémico en el paciente diabético. La información que aporta es insustituible pero no excluye, sino que complementa, otros parámetros de control como las glucemias, glucosurias y el autocontrol glucémico. La frecuencia de determinación de glucohemoglobina varía en función del tipo de diabetes que presente el paciente y su estabilidad metabólica. Probablemente en pacientes estables con diabetes tipo 1 sea suficiente una determinación trimestral,⁵¹ mientras que en los pacientes con diabetes tipo 2 en tratamiento dietético o con antidiabéticos orales una determinación semestral o anual sea adecuada. La frecuencia de determinaciones de glucohemoglobina deberá incrementarse en situaciones de descompensación metabólica tanto en pacientes de tipo 1 como de tipo 2 ó en las ocasiones en que se instaure un cambio de tratamiento, como el paso de antidiabéticos a insulina o el cambio de una insulinización convencional a un tratamiento intensivo.

V. CONSECUENCIAS BIOLÓGICAS DE LA GLUCACIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas alteradas por la hiperglucemia crónica pueden por un lado ver modificadas sus propiedades estructurales y funcionales⁵² y por otro lado pueden volverse inmunogénicas originando la aparición de autoanticuerpos que pueden reconocer no sólo la proteína diana, sino también otras proteínas glucadas tisulares o circulantes.^{53, 54}

Los PFGA se acumulan a lo largo del tiempo en proteínas tisulares y contribuyen a la patogenia de las complicaciones tardías de la diabetes.^{55, 56, 57, 58, 59, 60, 61} La formación de enlaces intermoleculares produce alteraciones en la funcionalidad de las proteínas. El reciente descubrimiento de la pentosidina, un PFGA formado por enlace entre residuos de lisina y arginina con una pentosa, ha demostrado que la reacción de Maillard se encuentra acelerada en pacientes diabéticos con complicaciones. Se ha objetivado que estos productos se acumulan con mayor rapidez en los tejidos y en el suero de pacientes diabéticos que en sujetos normales. Además la acumulación de estos productos es mayor a medida que se deteriora la función renal.^{62, 63, 64}

La glucación no enzimática de las proteínas plasmáticas constituye una fuente de estimulación celular que induce a los macrófagos a segregar citocinas como interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (FNT) y factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF-1).⁶⁵ Recientemente se ha descrito la capacidad quimiotáctica de estos productos glucados en los fagocitos mononucleares⁶⁷. Por otro lado, se han encontrado receptores para proteínas modificadas por PFGA en macrófagos y se piensa que estos receptores participan en el aclaramiento de estas proteínas glucadas.^{66, 67, 68, 69} La presencia de receptores en linfocitos T sugiere que estas células podrían servir de intermediarios en una respuesta inmune iniciada por la acumulación de PFGA.⁷⁰ Recientemente, además, se ha identificado ARNm de receptores para PFGA en células endoteliales, fibras musculares lisas vasculares, miocitos cardíacos y tejido neural, lo que sugiere que dichos receptores se encuentran en múltiples tejidos y que las interacciones PFGA-receptor podrían modular las modificaciones de las funciones vascular, neural y cardíaca, que tienen lugar tanto en la diabetes mellitus como en el envejecimiento normal.^{71, 72}

A. ÁCIDOS NUCLEICOS Y COLÁGENO

La unión de los PFGA es irreversible y reviste una especial importancia en moléculas de vida prolongada como los ácidos nucleico y el colágeno. Los productos de Amadori se han identificado en el núcleo de las células de los pacientes diabéticos⁷³ y experimentos in vitro han mostrado que la glucación no enzimática de los grupos amino de los nucleótidos del ADN y de las histonas pueden formar PFGA.^{74, 75, 76} La formación de estos compuestos en el núcleo celular puede provocar mutaciones, cambios estructurales y trastornos de la expresión genética.⁷⁷ Se ha sugerido que la pérdida precoz de los pericitos de los capilares de la retina de los pacientes diabéticos podría estar en relación con el efecto de los PFGA sobre el ADN a través de una alteración en la expresión genética.⁷⁸ Hoy día no se conocen completamente las posibles consecuencias del daño de los ácidos nucleicos inducido por los PFGA, sin embargo, no se puede descartar una contribución de la glucación no enzimática del ADN en el desarrollo de algunas de las complicaciones crónicas de la diabetes.

Se ha observado que tanto los productos de Amadori como los de la reacción de Maillard están incrementados en el colágeno cutáneo de los diabéticos de tipo I.⁷⁹ Además, existe una correlación positiva entre la acumulación de estos productos y la presencia y gravedad de ciertas complicaciones diabéticas, tales como la retinopatía y

nefropatía.^{80, 81} Asimismo, se ha sugerido que la interacción del colágeno con los PFGA podría favorecer el endurecimiento del tejido conectivo periarticular. Esto contribuiría, al menos en parte, a la limitada movilidad articular observada en los pacientes diabéticos.⁸² Por otro lado, se sabe que la formación de PFGA en las proteínas de la membrana basal, tales como el colágeno tipo IV y la laminina provoca alteraciones estructurales y funcionales. Se piensa que este efecto podría alterar la capacidad de promover la adhesión celular y provocar cambios en la permeabilidad vascular.^{83, 84}

B. LÍPIDOS PLASMÁTICOS

Los pacientes diabéticos presentan concentraciones plasmáticas de lipoproteínas glucadas elevadas. Esta glucación puede aumentar el potencial aterogénico de ciertos constituyentes plasmáticos tales como las lipoproteínas de baja densidad (LDL). En efecto, las concentraciones de LDL glucada están aumentadas en los pacientes diabéticos, aun en ausencia de hiperlipemia y en presencia de un adecuado control metabólico.⁸⁵ Dichas concentraciones se correlacionan positivamente con otros índices de control glucémico.^{86, 87, 88, 89}

La glucación de las LDL puede contribuir al desarrollo de la aterosclerosis por diferentes mecanismos patogénicos. Por un lado, el reconocimiento anómalo de las LDL glucadas por su receptor facilitaría la acumulación de estas lipoproteínas en los macrófagos y, de esta manera, contribuiría a la formación de las células espumosas.^{87,90,91,92} Por otro lado, la glucación de las LDL podría generar radicales libres provocando un daño oxidativo tanto a los componentes lipídicos como proteicos de las LDL, aumentando su riesgo aterogénico.^{88, 93, 94, 95} Se ha encontrado una correlación significativa entre la glucación de las LDL y la oxidación de estas lipoproteínas,⁹⁶ lo que indica una relación en la glucación no enzimática de las LDL y el incremento de la susceptibilidad a la aterogénesis. Finalmente, las LDL glucadas tienen la capacidad de ser inmunogénicas con la consiguiente formación de inmunocomplejos, que son potentes estimuladores de la formación de células espumosas.^{87, 97, 98}

La glucación no enzimática afecta a otras apolipoproteínas además de la apo B de las LDL.⁹⁹ En efecto, se ha observado que la glucación de la apolipoproteína A-I, principal constituyente proteico de las HDL, disminuye la activación de la lecitina-colesterol

aciltransferasa (LCAT), enzima encargada de esterificar el colesterol, reduciendo de esta manera el aclaramiento plasmático de colesterol por las HDL.^{87,100,101,102,103} Asimismo, se ha encontrado un aclaramiento plasmático acelerado de las HDL plasmáticas, así como una defectuosa unión a sus receptores en los fibroblastos.^{100,101,104}

En los pacientes diabéticos las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) también sufren el proceso de glucación no enzimática. Dicha modificación estructural hace que las VLDL glucadas interactúen más pobremente con la lipoproteinlipasa y, por consiguiente, se reduzca la lipólisis de sus triglicéridos. Se ha sugerido que este mecanismo podría contribuir al desarrollo de la hipertrigliceridemia observada en los pacientes diabéticos.¹⁰⁵

C. PARED VASCULAR

Las proteínas plasmáticas glucadas, fundamentalmente apo B-LDL e inmunoglobulina G (IgG), pueden extravasarse y reaccionar con otras proteínas de la pared vascular, entre las que se encuentran el colágeno, la fibronectina y la laminina, formando en última instancia PFGA.^{106, 107, 108} En la pared arterial las proteínas modificadas por PFGA provocan diversas alteraciones tales como aumento de la permeabilidad vascular, inactivación de la actividad del óxido nítrico, reducción de la elasticidad de las paredes vasculares e incremento del depósito de calcio. La glucación de estas proteínas también induce la liberación de citocinas promotoras del crecimiento, tales como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP), IL-1 e IGF-1 y posiblemente provoca alteraciones en el ADN que pueden estimular la proliferación del músculo liso.^{87, 108, 109, 110, 111, 112} Recientemente se han desarrollado anticuerpos frente a los PFGA que permiten el estudio inmunohistoquímico de las paredes arteriales y se han hallado valores elevados de reactividad PFGA en placas de ateroma procedentes de vasos de pacientes diabéticos.¹¹³ Estos datos apoyan también el papel de los productos de glucación avanzada en la génesis y progresión de la aterosclerosis asociada a la diabetes mellitus.

En síntesis, la glucación de las lipoproteínas plasmáticas y la acumulación extravascular de los PFGA pueden ser los factores responsables del desarrollo acelerado de la aterosclerosis que aparece en la población diabética.^{93, 94, 97, 108, 109, 114}

D. COAGULACIÓN

Los fenómenos tromboembólicos son más frecuentes en la población diabética. Las anomalías que se observan en estos pacientes incluyen todos los procesos de la coagulación, afectando tanto a la formación del trombo como a su inhibición, fibrinólisis y a las funciones plaquetarias y endotelial, con el resultado final de un favorecimiento de la trombogénesis. La hiperglucemia contribuye de forma muy directa a estas alteraciones.¹¹⁵ En efecto, la glucación no enzimática de las proteínas clave de la coagulación afecta a estos procesos.^{115, 116} La interacción entre las proteínas glucadas con los receptores de PFGA de las células endoteliales facilita el proceso de trombogénesis en los vasos de los pacientes diabéticos debido, por un lado, a una reducción de la actividad de la trombosmodulina y, por otro, a un aumento de la actividad del factor tisular, que activa los factores IX y X de la coagulación.^{68, 117} Asimismo, la interacción de los PFGA con sus receptores provoca la liberación de FNT aumentando la actividad procoagulante.¹¹⁸ La glucación no enzimática de la antitrombina III disminuye su actividad inhibidora de la trombina tanto *in vitro*¹¹⁹ como *in vivo*,⁵⁵ mientras que la glucación del factor de Von Willebrand pudiera ser responsable, al menos en parte, de la incrementada agregación plaquetaria descrita en diabéticos mal controlados.¹²⁰ Si bien no se pueden atribuir todos estos cambios procoagulantes observados en la población diabética a la glucación no enzimática de las proteínas, parece que existen claras evidencias de su posible participación en dicho proceso.

E. ERITROCITOS

La glucación de las proteínas de membrana de los hematíes se ha relacionado con las anomalías funcionales eritrocitarias que frecuentemente se observan en pacientes diabéticos tales como la reducción de la deformabilidad y la fluidez de la membrana, así como disminución de su vida media biológica.^{121, 122, 123, 124, 125, 126} Se ha descrito también que esta glucación puede disminuir la actividad de los transportadores de glucosa de membrana.¹²⁷ Por otro lado, la glucación de diferentes enzimas eritrocitarias tales como la ATPasa-Ca₂₊ y la Cu-Zn superóxido-dismutasa, conlleva a una reducción de la actividad de éstas y puede contribuir al desarrollo de algunas de las anomalías funcionales eritrocitarias descritas en diabéticos.^{128, 129} Todas estas anomalías podrían provocar trastornos en el flujo sanguíneo microvascular causando

un daño hipóxico en las paredes vasculares y tejidos adyacentes, contribuyendo al desarrollo de la microangiopatía diabética en los vasos retinianos y renales.

F. FUNCIÓN INMUNE

Otras proteínas plasmáticas, como las inmunoglobulinas, también son susceptibles de sufrir el proceso de glucación no enzimática. Se han descrito concentraciones plasmáticas elevadas de IgG glucada en el suero de los pacientes diabéticos. Esta glucación conlleva una serie de alteraciones estructurales y funcionales, fundamentalmente en el fragmento Fc^{130, 131} disminuyendo de forma significativa la capacidad de fijación del complemento¹³² y aumentando su tasa de aclaramiento vascular.¹³³ El depósito extracelular de IgG glucada contribuye a la formación de PFGA y, por consiguiente, al engrosamiento de las membranas basales.⁵⁵

G. NEFROPATÍA DIABÉTICA

Fenómenos similares se han implicado también en la génesis de la nefropatía diabética.^{134,135,136} Tanto la hiperglucemia crónica como la hipertensión pueden modificar de forma significativa la función renal. El adecuado control glucémico con terapia insulínica intensiva retarda de forma eficaz la aparición y enlentece la progresión de la nefropatía diabética en los diabéticos insulínodpendientes.¹ La hiperglucemia crónica induce la glucación no enzimática, por un lado, de proteínas plasmáticas que tienden a depositarse en la membrana basal del glomérulo y, por otro, de proteínas tisulares entre las que se encuentran las propias de la membrana basal glomerular y tubular.^{56, 62, 106, 137} Asimismo, según declina la función renal aumenta la acumulación de los PFGA y, por consiguiente, se forma un círculo vicioso.^{62, 138} Se han propuesto diferentes mecanismos patogénicos del efecto de las proteínas glucadas sobre la función renal. Se han descrito receptores de PFGA en las células mesangiales y se sabe que la acumulación de estos productos en el glomérulo puede estimular el crecimiento mesangial.^{139, 140} Además, se ha comunicado la presencia de citotoxicidad de los PFGA sobre las células endoteliales y mesangiales en el glomérulo, lo que favorece el desarrollo de esclerosis.¹⁴¹ El colágeno tipo IV, constituyente proteico de las membranas basales, también sufre glucación no enzimática, lo que origina alteraciones estructurales y funcionales de las mismas. Por último, recientemente se ha comprobado la capacidad de los PFGA para estimular la síntesis de colágeno tipo IV a nivel renal.^{142, 143, 144} Todos estos datos sugieren un

papel directo de los productos de glucación en la patogénesis de la nefropatía diabética, caracterizada por un descenso de la celularidad junto con una expansión de la matriz mesangial.

H. CRISTALINO

Se han descrito dos tipos de cataratas en los pacientes diabéticos. La catarata subcapsular se desarrolla debajo de la cápsula anterior y posterior del cristalino y aparece fundamentalmente en los diabéticos de tipo I, mientras que la catarata senil representa cambios escleróticos en el núcleo del cristalino. Esta última es la forma más frecuente, si bien en los diabéticos, sobre todo en los que presentan un mal control metabólico, el desarrollo es más precoz. No se conoce con exactitud cuáles son los factores patogénicos de la catarata diabética. Se piensa que la hiperglucemia crónica puede contribuir al desarrollo de la misma a través de la acumulación del exceso de sorbitol y de la glucación no enzimática de las proteínas del cristalino.¹⁴⁵ Con respecto a esto último, se conoce que las proteínas del cristalino y su cápsula experimentan glucación no sólo en pacientes diabéticos,¹⁴⁶ sino también en relación con el proceso de envejecimiento.¹⁴⁷ Además, la acumulación de PFGA es superior en el cristalino portador de catarata de los pacientes diabéticos que en el de la catarata senil del anciano.^{148,149} Esta glucación induce cambios conformacionales, procesos de oxidación, oscurecimiento y agregación de las proteínas del cristalino, pudiendo favorecer el desarrollo de la catarata diabética.^{146, 150, 151} Estudios llevados a cabo en animales han mostrado que los suplementos dietéticos con ascorbato¹⁵² o la administración de aspirina e ibuprofeno¹⁵³ evitan parcialmente la formación de PFGA en el cristalino, lo que sugiere un cierto papel preventivo de este compuesto en la génesis de la catarata diabética.

I. PIEL Y TEJIDO SUBCUTÁNEO

Las concentraciones cutáneas de pentosidina se han encontrado elevadas en los pacientes urémicos y diabéticos, así como en ancianos.^{63, 79, 80, 154, 155} En los diabéticos de tipo I se ha observado, además, una correlación positiva entre la formación cutánea de este PFGA y la presencia y gravedad de las complicaciones diabéticas.^{80, 81} Por otro lado, la glucación no enzimática del colágeno produce disminución de su solubilidad y de la flexibilidad de la piel. En este sentido, ya hemos mencionado anteriormente que la limitada movilidad articular observada en diabéticos podría estar

en relación con una interacción incrementada entre el colágeno cutáneo con los PFGA.⁸² Finalmente, se ha intentado relacionar la glucación no enzimática de las proteínas del estrato córneo y de las uñas con la presencia de la piel y uñas amarillas observadas en los diabéticos.^{156, 157}

VI. POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS

El posible papel de la glucación no enzimática en la génesis de las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus ha abierto nuevas líneas de investigación en relación a la utilización de diferentes fármacos que actúen inhibiendo dicha glucación. Hasta el momento actual la mayoría de los estudios se han realizado en animales de experimentación y los resultados obtenidos podrían ser bastante prometedores en un futuro. Son muchos los fármacos que se han investigado, destacando entre ellos la piridoxina,^{158,159} la penicilamina,¹⁶⁰ el lipoato o ácido tióctico,¹⁶¹ el captopril,¹⁶² el tocoferol,^{163,164} el ácido ascórbico,^{152,164,165} el ácido acetilsalicílico,^{153,166} el ibuprofeno,¹⁵³ la acarbosa,¹⁶⁷ la D-lisina¹⁶⁸ y la aminoguanidina.¹⁶⁹ De todos ellos, esta última parece ser la que presenta una mayor proyección terapéutica.

Se ha sugerido que altas dosis de tocoferol en pacientes con diabetes o de ácido ascórbico en sujetos no diabéticos reducirían la glucación proteica. Los mecanismos por los que estos micronutrientes afectan la glucación no están perfectamente aclarados. Algunos autores postulan que el ácido ascórbico podría actuar compitiendo con la glucosa en la unión con la hemoglobina formando una unión estable.¹⁶⁵ Otros, sin embargo, lo atribuyen a su capacidad de funcionar como antioxidantes.¹⁶⁴ En un estudio reciente no se encontraron asociaciones significativas entre las concentraciones de glucohemoglobina y la ingestión de tocoferol y ácido ascórbico,¹⁷⁰ aunque sí se observó una asociación negativa entre la ingesta de ácido ascórbico y la glucohemoglobina en sujetos no diabéticos. Asimismo, Davie et al.¹⁶⁵ han comunicado que la administración oral de 1 g/día de ácido ascórbico durante 3 meses a un grupo de sujetos no diabéticos provocó una reducción significativa de la hemoglobina y albúmina glucadas, así como de la fructosamina. Más recientemente, Jones y Hothersall¹⁵² han observado que los suplementos con ácido ascórbico evitan parcialmente la formación de PFGA en el cristalino de ratas diabéticas.

La utilización de la D-lisina, el dextro-isómero no fisiológico de la L-lisina, reduce competitivamente la glucación no enzimática tanto in vitro como in vivo. Este

compuesto posee las mismas características químicas que el levo-isómero, principal lugar de unión de las proteínas con la glucosa, sin embargo, es fisiológicamente inactivo. Su utilización en ratas diabéticas ha demostrado una reducción significativa de las concentraciones de hemoglobina y proteínas séricas glucadas, así como de las proteínas glucadas del cristalino.¹⁶⁸

El descubrimiento de los efectos beneficiosos de la aminoguanidina, un agente inhibidor de la reacción de Maillard, en la prevención de las complicaciones en la diabetes experimental ha abierto una nueva línea de investigación y nuevas esperanzas en el tratamiento de la diabetes. El mecanismo de acción de la aminoguanidina no se conoce con exactitud, si bien parece actuar a través de la unión covalente con los productos de Amadori y los derivados de éstos como la 3-deoxiglucosona, inhibiendo de este modo la formación de PFGA (fig1).¹⁶⁹ Estudios experimentales realizados tanto in vitro como in vivo han mostrado que la aminoguanidina es capaz de inhibir la formación de PFGA en las proteínas de la matriz extracelular. Su empleo a dosis farmacológicas reduce el número de microaneurismas retinianos, los depósitos PAS positivos intercapilares, el flujo sanguíneo retiniano, los capilares acelulares y la permeabilidad vascular. Todos estos efectos actúan evitando el desarrollo de la retinopatía diabética experimental, tanto en ratas normotensas como hipertensas.^{171,172} Por otro lado, se ha observado que la aminoguanidina también mejora la velocidad de conducción nerviosa en modelos animales de diabetes experimental. Su utilización redujo los trastornos de conducción en fibras motoras y sensitivas en un grupo de ratas diabéticas probablemente a través de la prevención de la formación de PFGA a nivel vascular.^{173, 174, 175} Los principales efectos renales son la disminución del contenido de PFGA de la membrana basal glomerular y, por tanto, una reducción de su espesor, así como una menor excreción urinaria de albúmina. Estas observaciones apuntan hacia un posible efecto preventivo de la nefropatía diabética. Basándonos en todos estos estudios, el empleo terapéutico de la aminoguanidina o sus análogos podría tener en un futuro un potencial efecto terapéutico en la prevención de las complicaciones diabéticas, si bien para ello es necesario realizar un mayor número de estudios experimentales tanto en modelos animales como en pacientes diabéticos.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Stratton IM, Alder AI, Neilo HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA. Association of glycemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes: prospective observational study. *Br Med J* 2000; 321: 405-412.
- ² Krantz S, Lober M, Henschel L. The nonenzymatic glycation of proteins and nucleic acids, their importance for the development of diabetic complications, possible molecular basis of aging and autoimmunological processes. *Exp Clin Endocrinol* 1986; 88: 257-269.
- ³ Koenig RJ, Cerami A. Synthesis of hemoglobin A1c in normal and diabetic mice: potential model of basement membrane thickening. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3687-3691.
- ⁴ Higgins PJ, Garlick RL, Bunn HF. Glycosylated hemoglobin in human animal red cells: role of glucose permeability. *Diabetes* 1982; 31: 743-748.
- ⁵ Smith RJ, Koenig RJ, Binnerts A, Soeldner JS, Aoki TT. Regulation of hemoglobin A1c formation in human erythrocytes in vitro. Effects of physiologic factors other than glucose. *J Clin Invest* 1982; 69: 1164-1168.
- ⁶ Bunn HF. Non-enzymatic glycosylation of protein: a form of molecular aging. *Schweiz Med Wochenschr* 1981; 111: 1503-1507.
- ⁷ Baynes JW, Bunn HF, Goldstein DE. National Diabetes Data Group: Report of the Expert Committee on glycosylated haemoglobin. *Diabetes Care* 1984; 7: 602-606.
- ⁸ Ashby JP, Deacon AC, Frier BM. Glycosylated haemoglobin measurement and clinical interpretation. *Diabet Med* 1985; 2: 83-87.
- ⁹ Goldstein DE, Little RR, Wiedemeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated haemoglobins: methodologies and clinical applications. *Clin Chem* 1986; 32: B64-B70.
- ¹⁰ John WG, Bullock DG, McKenzie F. Methods for the analysis of glycated haemoglobins: what is being measured. *Diabet Med* 1992; 9: 15-19.
- ¹¹ Standing SJ, Taylor RP. Glycated haemoglobin: an assessment of high capacity liquid chromatographic and immunoassay methods. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 494-505.
- ¹² Buño Soto A, Gómez Rioja R, Jariego Fente C, Grande Aragón C. Determinación de glucohemoglobina en el analizador IMx. *Quim Clin* 1994; 13: 254-256.
- ¹³ Weykamp CW, Penders TJ, Miedema K, Muskiet FAJ, Van der Slik W. Standardization of glycohemoglobin results and reference values in whole blood studied in 103 laboratories using 20 methods. *Clin Chem* 1995; 41: 82-86.

- 14 John WG. Glycated haemoglobin analysis assessment of within and between laboratory performance in large UK region. *Ann Clin Biochem* 1987; 24: 453-460.
- 15 Pickup JC, Crook MA, Tutt P. Blood glucose and glycated haemoglobin measurement in hospital: which method? *Diabet Med* 1993; 10: 402-411.
- 16 Ney KA, Colley KJ, Pizzo SV. The standardization of the thiobarbituric acid assay for nonenzymatic glycosylation of human serum albumin. *Ann Biochem* 1981; 118: 294-300.
- 17 Day JF, Thorpe SR, Baynes JW. Nonenzymatically glycosylated albumin. *J Biol Chem* 1979; 254: 595-597.
- 18 Rendell M, Kao G, Mecherikunnel P, Petersen B, Duhaney R, Nieremberg J et al. Use of aminophenylboronic acid affinity chromatography to measure glycosylated albumin levels. *J Lab Clin Med* 1985; 105: 63-69.
- 19 Willey DG, Rosenthal MA, Caldwell S. Glycosylated haemoglobin and plasma glycoprotein assays by affinity chromatography. *Diabetologia* 1984; 27: 56-58.
- 20 Hayashi Y, Makino M. Fluorometric measurement of glycosylated albumin in human serum. *Clin Chim Acta* 1985; 149: 13-19.
- 21 Fluckiger R, Woodtli T, Berger W. Evaluation of the fructosamine test for the measurement of plasma protein glycation. *Diabetologia* 1987;30: 648-652.
- 22 Fisker RA, Chan AW, Hanlon A, MacFarlane IA. Longitudinal changes in serum fructosamine do not parallel those in glycated haemoglobin in young adults with insulin-dependent diabetes. *Clin Chim Acta* 1990;191: 79-86.
- 23 Baker JR, Metcalf PA, Johnson RN, Newman D, Rietz P. Use of protein-based standards in automated colorimetric determinations of fructosamine in serum. *Clin Chem* 1985; 31: 1550-1554.
- 24 Baker JR, Johnson RN, Scott DJ. Serum fructosamine concentrations in patients with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus during changes in management. *Br Med J* 1984; 288: 1484-1486.
- 25 Gillery P, Delattre J, Plaquet R, Stahl A. Standardisation du dosage des fructosamines. *Diabet Metab* 1993; 19: 321-324.
- 26 Santiago JV, Davis JE, Fisher F. Hemoglobin A1c levels in a diabetes detection program. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47: 578-580.
- 27 Goto A. Diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 2002; 347: 947-948.

-
- ²⁸ Diabetes Mellitus. Report of a WHO Study Group. Technical Report Series 727. Ginebra: OMS, 1985.
- ²⁹ Lev-Ran A. Glycohemoglobin: its use in the follow-up of diabetes and diagnosis of glucose intolerance. *Arch Intern Med* 1981; 141: 747-749.
- ³⁰ Lev-Ran A, Vanderlaan WP. Glycohemoglobins and glucose intolerance. *JAMA* 1979; 241: 912-914.
- ³¹ Boucher BJ, Welch SG, Beer MS. Glycosylated haemoglobins in the diagnosis of diabetes mellitus and for the assessment of chronic hyperglycemia. *Diabetologia* 1981; 21: 34-36.
- ³² Bolli G, Compagnucci P, Cartechini MG, Santeuiano F, Cirotto C, Scionti L et al. HbA1 in subjects with abnormal glucose tolerance but normal fasting plasma glucose. *Diabetes* 1980; 29: 272-277.
- ³³ Cederholm J, Ronquist G, Wibell L. Comparison of glycosylated hemoglobin with oral glucose tolerance test. *Diabet Metab* 1984; 10: 224-229.
- ³⁴ Cefalu WT, Ettinger WH, Bell-Farrow AD, Rushing JT. Serum fructosamine as a screening test for diabetes in the elderly: a pilot study. *J Am Geriatr Soc* 1993; 41: 1090-1094.
- ³⁵ Goldstein DE, Walker B, Rawlings SS, Hess RL, England JD, Peth SB et al. Hemoglobin A1c levels in children and adolescents with diabetes mellitus. *Diabet Care* 1980; 3: 503-507.
- ³⁶ Agardh CD, Tallroth G. Lack of correlation between glycosylated haemoglobin concentrations and number of daily insulin injections: cross sectional study in care of ambulatory diabetes. *Br Med J* 1985; 291: 622.
- ³⁷ Mecklenburg RS, Benson EA, Benson JW Jr, Blumenstein BA, Fredlund PN, Guinn TS et al. Long-term metabolic control with insulin pump therapy. Report of experience with 127 patients. *N Engl J Med* 1985; 313: 465-468.
- ³⁸ Wywiał M, Silanczyk A, Wywiał R, Jakubowska D, Zmudzinski W, Kokot S. Oznaczenie hemoglobiny glikozylowanej przydatna metoda kontroli przebiegu cukrzycy typu II u chorych podejrzanych o niepełne wyrownanie. *Pol Arch Med Wewn* 1993; 90: 35-41.
- ³⁹ Blanc MH, Barnett DM, Gleason RE, Dunn PJ, Soeldner JS. Hemoglobin A1c compared with three conventional measures of diabetes control. *Diabet Care* 1981; 4: 349-353.
- ⁴⁰ Aronson D. Potential role of advanced glycosylation end products in promoting restenosis in diabetes and renal failure. *Med Hypotheses* 2002; 59: 297-301.

-
- ⁴¹ Dolhofer R, Wieland OH. Glycosylation of serum albumin: elevated glucosyl albumin in diabetic patients. *FEBS Lett* 1979; 103: 282-286.
- ⁴² Dolhofer R, Wieland OH. Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus. *Diabetes* 1980; 29: 417-422.
- ⁴³ Dolhofer R, Renner R, Wieland OH. Different behavior of haemoglobin A1a-c and glucosylalbumin levels during recovery from diabetic ketoacidosis and non-acidotic coma. *Diabetologia* 1981; 21: 211-215.
- ⁴⁴ Kempf SF, Creech RH, Horn TR. Glycosylated albumin and transferrin: short term markers of blood glucose control. *J Pediatr* 1984; 105: 394-398.
- ⁴⁵ McFarland KF, Catalano EW, Day JF, Thorpe SR, Baynes JW. No-nenzymatic glycosylation of serum proteins in diabetes mellitus. *Diabetes* 1979; 28: 1011-1014.
- ⁴⁶ Yue DK, Morris K, McLennan S, Turtle JR. Glycosylation of plasma protein and its relation to glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1980; 29: 296-300.
- ⁴⁷ Grande C, Díez JJ, De la Morena ML, Ezquieta B, Luna R, Pallardo LF. Evolución de parámetros de glucación proteica a lo largo de la gestación en pacientes diabéticas. *Endocrinología* 1989; 36: 322-326.
- ⁴⁸ Miller E, Hare JW, Cloherty JP, Dunn PJ, Gleason RE, Soeldner S et al. Elevated maternal hemoglobin A1c in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *N Engl J Med* 1981; 304: 1331-1334.
- ⁴⁹ Ylinen K, Aula P, Stenman UH, Kesäniemi-Kuokkanen T, Teramo K. Risk of minor and major fetal malformations in diabetics with high haemoglobin A1c values in early pregnancy. *Br Med J* 1984; 289: 345-346.
- ⁵⁰ Díez JJ, Pallardo LF, Grande C. Hemoglobina glucosilada y fructosamina sanguíneas y péptido C en el líquido amniótico de gestantes diabéticas: relación con el peso fetal. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 484-489.
- ⁵¹ Dunn PJ, Cole RA, Soeldner JS, Gleason RE. Stability of hemoglobin A1c levels on repetitive determination in diabetic outpatients. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 1019-1022.
- ⁵² Watala C, Gwozdinski K, Malek M. Direct evidence for the alterations in protein structure and conformation upon in vitro nonenzymatic glycosylation. *Int J Biochem* 1992; 24: 1295-1302.
- ⁵³ Cerami A, Vlassara H, Brownlee M. Glucose and aging. *Sci Am* 1987;5: 90-96.

- ⁵⁴ Nakayama H, Taneda S, Kuwajima S, Aoki S, Kuroda Y, Misawa K et al. Production and characterization of antibodies to advanced glycation products on proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162: 740-745.
- ⁵⁵ Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-537.
- ⁵⁶ Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation and products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1988; 318: 1315-1321.
- ⁵⁷ Monnier VM, Sell DR, Abdul-Karim FW, Emancipator SN. Collagen browning and cross-linking are increased in chronic experimental hyperglycemia. *Diabet* 1988; 37: 867-872.
- ⁵⁸ Sensi M, Pricci F, Andreani D, Di Mario U. Advanced nonenzymatic glycation endproducts (AGE): their relevance to aging and the pathogenesis of late diabetic complications. *Diabetes Res* 1991; 16: 1-9.
- ⁵⁹ Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabet Care* 1992; 15: 1835-1843.
- ⁶⁰ Monnier V. Glycosylation non-enzymatique des proteines. *Complications du diabete, du vieillissement et de l'insuffisance renale*. *Presse Med* 1993; 22: 1413-1418.
- ⁶¹ Wu JT. Review of diabetes: identification of markers for early detection, glycemic control, and monitoring clinical complications. *J Clin Lab Anal* 1993; 7: 293-300.
- ⁶² Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V et al. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325: 836-842.
- ⁶³ Sell DR, Nagaraj RH, Grandhee SK, Odetti P, Lapolla A, Fogarty J et al. Pentosidine: a molecular marker for the cumulative damage to proteins in diabetes, aging, and uremia. *Diabet Metab Rev* 1991; 7: 239-251.
- ⁶⁴ Niwa T, Takeda N, Yoshizumi H, Tatematsu A, Ohara M, Tomiyama S et al. Presence of 3-deoxyglucosone, a potent crosslinking intermediated of Maillard reaction, in diabetic serum. *Biochem Biophys Res Comm* 1993; 196: 837-843.
- ⁶⁵ Vlassara H, Brownlee M, Manogue K, Dinarello CA, Pasagian A, Cachectin/ TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988; 240: 1546-1548.
- ⁶⁶ Uesugi n, Sakata N, Horiucti S, Naga I. Glycoxilation modified macrophages and lipid peroxidation products associated with the progression of human diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis*. 2001; 38: 1016-1025.

- ⁶⁷ Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. High-affinity-receptor-mediated up-take and degradation of glucose-modified proteins: a potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 5588-5592.
- ⁶⁸ Vlassara H, Moldawer L, Chan B. Macrophage/monocyte receptor for non-enzymatically glycosylated proteins is upregulated by cachectin/tumor necrosis factor. *J Clin Invest* 1989; 84: 1813-1820.
- ⁶⁹ Radoff S, Cerami A, Vlassara H. Isolation of surface binding protein specific for advanced glycosylation end products from mouse macrophage-derived cell line RAW 264.7. *Diabetes* 1990; 39: 1510-1518.
- ⁷⁰ Imani F, Horii Y, Suthanthiran M, Skolnik EY, Makita Z, Sharma V et al. Advanced glycosylation endproduct-specific receptors on human and rat T-lymphocytes mediate synthesis of interferon gamma: role in tissue remodeling. *J Exp Med* 1993; 178: 2165-2172.
- ⁷¹ Wautier JL, guillausseau PJ. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab.* 2001; 27: 535-542.
- ⁷² Wu VY, Cohen MP. Identification of aortic endothelial cell binding proteins for Amadori adducts in glycated albumin. *Biochem Biophys Res Comm* 1993; 30: 1131-1136.
- ⁷³ Kelly SB, Olerud JE, Witztum JL, Curtiss LK, Gown AM, Odland GF. A method for localizing the early products of nonenzymatic glycosylation in fixed tissue. *J Invest Derm* 1989; 93: 327-331.
- ⁷⁴ Bucala R, Model P, Cerami A. Modification of DNA by reducing sugars: a possible mechanism for nucleic acid aging and age-related dysfunction in gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 105-109.
- ⁷⁵ De Bellis D, Horowitz MI. In vitro studies of histone glycation. *Biochem Biophys Acta* 1987; 926: 365-368.
- ⁷⁶ Liebich HM, Gesele E, Wirth C, Woll J, Jobst K, Lakatos A. Non-enzymatic glycation of histones. *Biol Mass Spectrom* 1993; 22: 121-123.
- ⁷⁷ Lorenzi M, Montisano DF, Toledo S, Barrioux A. High glucose and DNA damage in endothelial cells. *J Clin Invest* 1986; 77: 322-325.
- ⁷⁸ Penn A, Garte SJ, Warren L, Nesta D, Mindich B. Transformin gene in human atherosclerotic plaque DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7951-7955.
- ⁷⁹ Zilin S, Naifeng L, Bicheng L, Jiping W. The determination of AGE-peptides by flow injection assay a practical marker of diabetic nephropathy. *Clin Chim Acta* 2001; 313: 69-75.

-
- ⁸⁰ Sell DR, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM. Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with longstanding IDDM. *Diabetes* 1992; 41: 1286-1292.
- ⁸¹ McCance DR, Dyer DG, Dunn JA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes JW et al. Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91: 2470-2478.
- ⁸² Huliahan CA, Tsalamdris C, Akdeniz A, Jerumus G. Albumin to creatinine ratio: screening test with limitations. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1183-1189.
- ⁸³ Tsilbary EC, Charonis AS, Reger LA, Wohlhueter RM, Furcht LT. The effect of nonenzymatic glycosilation on the binding of the main non collagenous NC1 domain at to type IV collagen. *J Biol Chem* 1988; 263: 4302-4308.
- ⁸⁴ Sakharova OV, Taal MVV, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic nephropathy. Focus of transforming growth factor-beta and connective tissue growth factor. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001;10: 727-738.
- ⁸⁵ Lyons TJ, Patrick JS, Baines JW, Colwell JA, Lopes-Virella MF. Glycosylation of low density lipoprotein in patients with type 1 diabetes: correlations with other parameters of glycaemic control. *Diabetologia* 1986; 29: 685-689.
- ⁸⁶ Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. Lipid advanced glycosilation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6434-6438.
- ⁸⁷ Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. *Diabetes* 1992; 41 (Supl 2): 67-73.
- ⁸⁸ Lyons TJ. Glycation and oxidation: a role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1993; 71: 26B-31B.
- ⁸⁹ Cohen MP, Lautenslager G, Shea E. Glycated LDL concentrations in non-diabetic and diabetic subjects measured with monoclonal antibodies reactive with glycated apolipoprotein B epitopes. *Eur J Clin Chem Biochem* 1993; 31: 707-713.
- ⁹⁰ Lopes-Virella MF, Sherer GK, Lees AM, Wohlthann H, Mayfield R, Sagel J et al. Surface binding, internalization and degradation by cultured human fibroblasts of low density lipoproteins isolated from type I (insulin-dependent) diabetic patients: changes with metabolic control. *Diabetologia* 1982; 22: 430-436.
- ⁹¹ Ponsin G, Calvo C, Berthezene F. Metabolic consequences of the nonenzymatic glucosilation of apolipoproteins. *Diabet Metab* 1991; 17: 497-502.

- ⁹² Sobenin IA, Tertov VV, Koschinsky T, Bunting CE, Slavina ES, Dedov II et al. Modified low density lipoproteins from diabetic patients causes cholesterol accumulation in human intimal aortic cells. *Atherosclerosis* 1993; 100: 41-54.
- ⁹³ Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownlee M. Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem Biophys Res Comm* 1990; 173: 932-939.
- ⁹⁴ Lyons TJ. Oxidized low density lipoproteins- a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabet Med* 1991; 8: 411-419.
- ⁹⁵ Morel DW, Hessler JR, Chisol GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J Lipid Res* 1983; 24: 1070-1076.
- ⁹⁶ Bowie A, Owens D, Collins P, Johnson A, Tomkin GH. Glycosylated low density lipoprotein is more sensitive to oxidation: implications for the diabetic patient? *Atherosclerosis* 1993; 102: 63-67.
- ⁹⁷ Lopes-Virella MF, Virella G. Immune mechanisms of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Diabetes* 1992; 41 (Supl 2): 86-91.
- ⁹⁸ Gisinger CH, Lopes-Virella MF. Lipoprotein-immune complexes and diabetic vascular complications. *Diabetes* 1992; 41 (Supl 2): 92-96.
- ⁹⁹ Curtiss LK, Witztum JL. Plasma apolipoproteins A-I, A-II, B, C-I, and E are glycosylated in hyperglycemic diabetic subjects. *Diabetes* 1985; 34: 452-461.
- ¹⁰⁰ Duell PB, Oram JF, Bierman EL. Nonenzymatic glycosylation of HDL resulting in inhibition of highaffinity binding to cultured human fibroblasts. *Diabetes* 1990; 39: 1257-1263.
- ¹⁰¹ Duell PB, Oram JF, Bierman EL. Nonenzymatic glycosylation of HDL and impaired HDL-receptor-mediated cholesterol efflux. *Diabetes* 1991; 40: 377-384.
- ¹⁰² Calvo C, Verdugo C. Association in vivo of glycated apolipoprotein A-I with high density lipoproteins. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 3-5.
- ¹⁰³ Calvo C, Ulloa N, Del Pozo R, Verdugo C. Decreased activation of lecithin. cholesterol acyltransferase by glycated apolipoprotein A-I. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31: 217-220.
- ¹⁰⁴ Witztum JL, Fisher M, Pietro T, Steinbrecher UP, Elam RL. Nonenzymatic glucosilation of high-density lipoprotein accelerates its catabolism in guinea pigs. *Diabetes* 1982; 31: 1029-1032.

- ¹⁰⁵ Mamo JC, Szeto L, Steiner G. Glycation of very low density lipoprotein form rat plasma impairs its catabolism. *Diabetologia* 1990; 33: 339-345.
- ¹⁰⁶ Brownlee M, Pongor S, Cerami A. Covalent attachment of soluble proteins by nonenzymatically glycosylated collagen. role in the situ formation of immune complex. *J Exp Med* 1983; 158: 1739-1744.
- ¹⁰⁷ Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes* 1985; 34: 938-941.
- ¹⁰⁸ Pamplona R, Bellmunt MJ, Portero M, Prat J. Mechanisms of glycation in atherogenesis. *Med Hypotheses* 1993; 40: 174-181.
- ¹⁰⁹ Hogan M, Cerami A, Bucala R. Advanced glycosylation endproducts block the antiproliferative effect of nitric oxide. Role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992; 90: 1110-1115.
- ¹¹⁰ Airaksinen KE, Salmela PI, Linnaluoto MK, Ikaheimo MJ, Ahola K, Ryhanen LJ. Diminished arterial elasticity in diabetes: association with fluorescent advanced glycosylation end products in collagen. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 942-945.
- ¹¹¹ Huijberts MS, Wolfenbuttel BH, Boudier HA, Crijns FR, Kruseman AC, Poitevin P et al. Aminoguanidine treatment increases elasticity and decreases fluid filtration of large arteries from diabetics rats. *J Clin Invest* 1993; 92: 1407-1411.
- ¹¹² Tomizawa H, Yamazaki M, Kunika K, Itakura M, Yamashita K. Association of elastin glycation and calcium deposit in diabetic rat aorta. *Diabet Res Clin Pract* 1993; 19: 1-8.
- ¹¹³ Nakamura Y, Horii Y, Nishino T, Sakaguchi Y, Kagoshima T, Dohi K et al. Immunohistochemical localization of advanced glycosylation end products in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus. *Am J Pathol* 1993; 143: 1649-1656.
- ¹¹⁴ Morel DW, DiCorleto PE, Chilsom G. Endothelial and smooth muscle cells alters LDL in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 1984;4: 357-364.
- ¹¹⁵ Ceriello A. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 1993; 36:1119-1125.
- ¹¹⁶ Cohen I, Burk D, Fullerton RJ, Veis A, Green D. Nonenzymatic glycation of human blood platelet proteins. *Thromb Res* 1989; 55: 341-349.
- ¹¹⁷ Esposito C, Gerlach H, Brett J, Stern D, Vlassara H. Endothelial receptor-mediated binding of glucose-modified is associated with increased monolayer permeability and modulation of cell surface coagulant properties. *J Exp Med* 1989; 170: 1387-1407.

- ¹¹⁸ Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci* 1986;83: 4533-4537.
- ¹¹⁹ Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Inhibition of heparin-catalyzed human antithrombin III activity by nonenzymatic glycosylation: possible role in fibrin deposition in diabetes. *Diabetes* 1984; 33: 532-535.
- ¹²⁰ Jones RL, Peterson CM. Hematologic alterations in diabetes mellitus. *Am J Med* 1981; 70: 339-352.
- ¹²¹ Watala C. Hyperglycaemia alters the physico-chemical properties of proteins in erythrocyte membranes of diabetic patients. *Int J Biochem* 1992; 24: 1755-1761.
- ¹²² Watala C, Witas H, Olszowska L, Piasecki W. The association between erythrocyte internal viscosity, protein non-enzymatic glycosylation and erythrocyte membrane dynamic properties in juvenile diabetes mellitus. *Int J Exp Pathol* 1992; 73: 655-663.
- ¹²³ Watala C. Role of nonenzymatic glycosylation of proteins in disorders of erythrocytes and blood platelets in diabetes mellitus. *Acta Haematol Pol* 1993; 24: 95-101.
- ¹²⁴ Peterson CHM, Jones RL, Koenig RJ, Melvin ET, Lehrman ML. Reversible hematologic sequelae of diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1977;86: 425-429.
- ¹²⁵ McMillan DE, Utterback NG, LaPuma J. Reduced erythrocyte deformability in diabetes. *Diabetes* 1978; 27: 895-901.
- ¹²⁶ Kuwajima S. Immunochemical determination of advanced glycation end products in erythrocyte peripheral-membrane proteins from diabetic patients. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1993; 68: 695-704.
- ¹²⁷ Bilan PJ, Klip A. Glycation of the human erythrocyte glucose transporter in vitro and its functional consequences. *Biochem J* 1990; 268: 661-667.
- ¹²⁸ González Flecha FL, Castello PR, Caride AJ, Gagliardino JJ, Rossi JP. The erythrocyte calcium pump is inhibited by non-enzymatic glycation: studies in situ and with the purified enzyme. *Biochem J* 1993; 293: 369-375.
- ¹²⁹ Kawamura N, Ookawara T, Suzuki K, Konishi K, Mino M, Taniguchi N. Increased glycosylated Cu,Zn-superoxide dismutase levels in erythrocytes of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1352-1354.

- ¹³⁰ Dolhofer Bliesener R, Gerbitz KD. Impairment by glycation of immunoglobulin G Fc fragment function. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 739-746.
- ¹³¹ Dohofer Bliesener R, Gerbitz KD. Effect of nonenzymatic glycation on the structure of immunoglobulin G. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1990; 371: 693-697.
- ¹³² Hennessey PJ, Black CT, Andrassy RJ. Nonenzymatic glycosilation of immunoglobulin G impairs complement fixation. *JPEN J Parent Enteral Nutr* 1991; 15: 60-64.
- ¹³³ Kennedy DM, Skillen AW, Self CH. Glycation increases the vascular clearance rate of IgG in mice. *Clin Exp Immunol* 1993; 94: 447-451.
- ¹³⁴ Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR. Relation between complications of type 1 diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 1986; 314: 403-408.
- ¹³⁵ Barnett AH. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: an overview. *Am J Med* 1991; 90 (Supl 6A): 67-73.
- ¹³⁶ Brouhard BH. Advanced glycosylation end products (AGE) and diabetic nephropathy. *Diabet Care* 1992; 15: 302-303.
- ¹³⁷ Harvey JN. Diabetic nephropathy. *Br Med J* 2002; 325: 59-60.
- ¹³⁸ Beisswenger PJ, Moore LL, Brinck Johnsen T, Curphey TJ. Increased collagen-linked pentosidine levels and advanced glycosylation end products in early diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1993; 92: 212-217.
- ¹³⁹ Skolnick EY, Yang Z, Makita Z, Radoff S, Kirstein M, Vlassara H. Human and rat mesangial cell receptors for glucose-modified proteins: potential role in kidney tissue remodelling and diabetic nephropathy. *J Exp Med* 1991; 174: 931-939.
- ¹⁴⁰ Crowley ST, Brownlee M, Edelstein D, Satriano JA, Morit T, Singhal PC et al. Effects of nonenzymatic glycosylation of mesangial matrix on proliferation of mesangial cells. *Diabetes* 1991; 40: 540-547.
- ¹⁴¹ Schlondorff D. Cellular mechanisms of lipid injury in the glomerulus. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 72-82.
- ¹⁴² Ziyadeh EN, Cohen MP. Effects of glycated albumin on mesangial cells: evidence for a role in diabetic nephropathy. *Mol Cell Biochem* 1993; 125: 19-25.
- ¹⁴³ Ziyadeh FN. Renal tubular basement membrane and collagen type IV in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1993; 43: 114-120.

- ¹⁴⁴ Cohen MP, Ziyadeh FN. Amadori glucose adducts modulate mesangial cell growth and collagen gene expression. *Kidney Int* 1994; 45: 475-487.
- ¹⁴⁵ Liang JN. Nonenzymatic advanced glycation in the lens membranes. *Exp Eye Res* 1993; 57: 45-49.
- ¹⁴⁶ Swamy MS, Abraham A, Abraham EC. Glycation of human lens proteins: preferential glycation of alpha A subunits. *Exp Eye Res* 1992; 54: 337-345.
- ¹⁴⁷ Kamei A. Glycation and insolubility of human lens protein. *Chem Pharm Bull Tokyo* 1992; 40: 2787-2791.
- ¹⁴⁸ Van Boekel MA, Hoenders HJ. Glycation of cristallins in lenses from aging and diabetic individuals. *FEBS Lett* 1992; 314: 1-4.
- ¹⁴⁹ Swamy MS, Abraham EC. Glycation of lens membrane intrinsic proteins. *Curr Eye Res* 1992; 11: 833-842.
- ¹⁵⁰ Abraham EC, Swamy MS, Perry RE. Nonenzymatic glycosilation (glycation) of lens crystallins in diabetes and aging. *Prog Clin Biol Res* 1989; 304: 123-139.
- ¹⁵¹ Swamy MS, Tsai C, Abraham A, Abraham EC. Glycation mediated lens cyrstallin aggregation and crosslinking by various sugars and sugar phosphates in vitro. *Exp Eye Res* 1993; 56: 177-185.
- ¹⁵² Jones RH, Hothersall JS. The effect of diabetes and dietary ascorbate supplementation on the oxidative modification of rat lens beta L crystallin. *Biochem Med Metab Biol* 1993; 50: 197-209.
- ¹⁵³ Blakytyn R, Harding JJ. Prevention of cataract in diabetic rats by aspirin, paracetamol (acetaminophen) and ibuprofen. *Exp Eye Res* 1992; 54: 509-518.
- ¹⁵⁴ Sell DR, Monnier VM. Endstage renal disease and diabetes catalyze the formation of a pentose-derived cross-link from aging human collagen. *J Clin Invest* 1990; 85: 380-384.
- ¹⁵⁵ Sell DR, Carlson EC, Monnier VM. Differential effects of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus on pentosidine formation in skin and glomerular basement membrane. *Diabetologia* 1993; 36: 936-941.
- ¹⁵⁶ Huntley AC. Cutaneous manifestations of diabetes mellitus. *Dermatol Clin* 1989; 7: 531-546.
- ¹⁵⁷ Sueki H, Nozaki S, Numuzawa S, Aoki K, Kiroiwa Y, Fujisawa R. Effect of non-enzymatic glycosylation and heating on browning of human stratum corneun and nail. *Dermatologica* 1991; 183: 197-202.

- ¹⁵⁸ Michailova M, Keita Y, Caspary S, Solem E, Kratzer W, Worner G et al. Inhibitory effect of vitamin B6 on nonenzymatic glycation of albumin and hemoglobin. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992; 30: 547-548.
- ¹⁵⁹ Hayakawa M, Shibata M. The in vivo and in vitro inhibition of protein glycosylation and diabetic vascular basement membrane thickening by pyridoxal-5'-phosphate. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo* 1991; 37: 149-159.
- ¹⁶⁰ Keita Y, Michailova M, Kratzer W, Worner G, Worner W, Rietbrock N. Influence de la penicillamine on the formation of early-non-enzymatic glycation products of human serum proteins. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992; 30: 441-442.
- ¹⁶¹ Suzuki YJ, Tsuchiya M, Packer L. Lipoate prevents glucose-induced protein modifications. *Free Radic Res Commun* 1992; 17: 211-217.
- ¹⁶² Le Guen CA, Bain S, Barnett AH, Lunec J. Captopril inhibits the fluorescence development associated with glycation of proteins. *Agents Actions* 1992; 36: 264-270.
- ¹⁶³ Ceriello A, Giugliano D, Quattraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications? *Diabet Care* 1991; 14: 68-72.
- ¹⁶⁴ Ceriello A, Quattraro A, Giugliano D. New insights on non-enzymatic glycosylation may lead to therapeutic approaches for the prevention of diabetic complications. *Diabet Med* 1992; 9: 297-299.
- ¹⁶⁵ Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* 1992; 41: 167-173.
- ¹⁶⁶ Sensi M, Bruno MR, Pozzilli P. In vitro inhibition of nonenzymic glycosylation induced by aspirin. *Med Sci Res* 1987; 15: 99-100.
- ¹⁶⁷ Cohen MP, Klepser H, Wu VY. Effect of alpha-glucosidase inhibition on the nonenzymatic glycation of glomerular basement membrane. *Gen Pharmacol* 1991; 22: 515-519.
- ¹⁶⁸ Sensi M, De Rossi MG, Celi FS, Cristina A, Rosati C, Perrett D et al. D-lysine reduces the non-enzymatic glycation of proteins in experimental diabetes mellitus in rats. *Diabetologia* 1993; 36: 797-801.
- ¹⁶⁹ Edelstein D, Brownlee M. Mechanistic studies of advanced glycosylation end product inhibition by aminoguanidine. *Diabetes* 1992; 41: 26-29.

- ¹⁷⁰ Shoff SM, Mares-Perlman JA, Cruickshanks KJ, Klein R, Klein BE, Ritter LL. Glycosylated hemoglobin concentrations and vitamin E, vitamin C, and beta-carotene intake in diabetic and nondiabetic older adults. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 412-416.
- ¹⁷¹ Hammes HP, Martin S, Federlin K, Gersen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of accelerated diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 11555-11558.
- ¹⁷² Hammes HP, Brownlee M, Edelstein D, Saleck M, Martin S, Federlin K. Aminoguanidine inhibits the development of accelerated diabetic retinopathy in the spontaneous hypertensive rat. *Diabetologia* 1994; 37: 32-35.
- ¹⁷³ Yagishashi S, Kamijo M, Baba M, Yagihashi N, Nagai K. Effect of aminoguanidine on functional and structural abnormalities in peripheral nerve of STZ-induced diabetic rats. *Diabetes* 1992; 41: 47-52.
- ¹⁷⁴ Cameron NE, Cotter MA, Dines K, Love A. Effects of aminoguanidine on peripheral nerve function and polyol pathway metabolites in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia* 1992; 35: 946-950.
- ¹⁷⁵ Cameron NE, Cotter MA. Potential therapeutic approaches to the treatment or prevention of diabetic neuropathy: evidence from experimental studies. *Diabet Med* 1993; 10: 593-605.

OBJETIVOS

La insuficiencia renal por nefropatía es la principal causa de muerte en los pacientes diabéticos.^{1,2} Se estima que hasta el 50% de estos desarrollarán la enfermedad en el transcurso de 10 a 30 años.³ Sobre todo en pacientes con diabetes mellitus tipo 1, se ha establecido una estrecha relación entre el tiempo de duración de la enfermedad metabólica y las manifestaciones clínicas de la nefropatía diabética.⁴

Son múltiples los marcadores bioquímicos de la lesión renal que se utilizan para detectar lo más precozmente posible las alteraciones estructurales y funcionales renales, antes de que aparezcan los signos de nefropatía.

La presencia repetida de microalbuminuria es lo que se ha utilizado para etiquetar a los pacientes de nefropatía establecida y que corresponde al Grado III de la clasificación de Mogensen.⁵

Cuando existe microalbuminuria es porque se ha alterado de forma permanente la membrana basal glomerular, aumentando el tamaño de sus poros. Para que este hecho se produzca han ocurrido anteriormente en el glomérulo una serie de cambios, primero funcionales, sobre todo el aumento de la presión capilar glomerular y posteriormente estructurales como la pérdida de la selectividad de carga a nivel de la membrana basal⁶ que facilita que progrese la lesión glomerular.

Desde que acontecen las primeras alteraciones funcionales hasta que aparece microalbuminuria pueden transcurrir años. A este periodo se le denomina de nefropatía incipiente, no tiene repercusiones clínicas y equivale a los Grados I y II de la referida clasificación de Mogensen.

Desde hace muchos años los investigadores tratan de encontrar algún hallazgo clínico o bioquímico que sirva para detectar lo más precozmente este periodo silente de la nefropatía diabética.

Conociendo los mecanismos fisiopatológicos que ocurren en el glomérulo en este periodo podemos estudiarlo con más profundidad. La pérdida de la selectividad de carga de la MBG se debe a que existe una disminución de los glucosaminoglicanos, unos de los componentes fundamentales de esta.⁷ Como consecuencia los GAG eliminados por la orina están aumentados.⁸

Pero también conocemos que en la degradación de los GAG juegan un importante papel dos enzimas lisosómicas: N-acetil- β -glucosaminidasa y β -glucuronidasa. En la diabetes mellitus tanto uno como otro también están alterados, aumentando su actividad urinaria.

El grado de control de la diabetes es uno de los factores más importantes involucrados en la patogénesis de la nefropatía.⁹ La determinación de hemoglobina glicosilada nos orienta de forma fidedigna sobre ese control glucémico en un momento determinado de la evolución de la enfermedad.¹⁰

Basados en estas hipótesis nos proponemos los siguientes objetivos:

1. Estudiar la actividad urinaria de la N-acetil beta glucosaminidasa en un grupo de sujetos sanos, tomados como control, que no tienen antecedentes de hipertensión arterial o de diabetes mellitus.
2. Analizar el comportamiento de dicho marcador de función renal en un amplio grupo de pacientes diabéticos agrupados según el estadio en que se encuentra la nefropatía, siguiendo la clasificación de Mogensen.
3. Correlacionar este parámetro con otros marcadores de función renal, como son los niveles séricos de urea, ácido úrico y creatinina, además de la creatinina urinaria y aclaramiento de creatinina.
4. Averiguar si existe relación entre el grado de control de la diabetes, mediante la determinación de hemoglobina glicosilada y la actividad urinaria de N-acetil beta glucosaminidasa.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2002; 346: 1145-1151.
- ² Ritz E, Orth SR. Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1999; 341: 1127-1133.
- ³ Viberti GC, Yip-Messent J, Morocutti A. Diabetic nephropathy. *Future avenue. Diabetes Care* 1992; 15:1216-1225.
- ⁴ Kikkawara R, Koya D, Haneda A. Progression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003; 3 (Suppl.3): S19-S21.
- ⁵ Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E, et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32 (suppl. 2): 64-78.
- ⁶ Myers BD, Winetx JA, Chui F et al. Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int* 1982; 21: 633-639.
- ⁷ Baggio B, Briani G, Cicerello E, Gambaro G, Bruttomesso D, Tiengo A, Borsatti A, Crepaldo G. Urinary glycosaminoglycans, sialic acid and lysosomal enzymes increase in nonalbuminuric diabetic patients. *Nephron* 1986; 43: 187-190.
- ⁸ Pérez-Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron* 1996; 73: 344-345.
- ⁹ Ansari A, Thomas S, Goldsmith D. Assessing glycemic control in patients with diabetes and end-stage renal failure. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 523-531.
- ¹⁰ Jorde R Ability of patients with type 1 diabetes mellitus to predict changes in HbA1c levels. *Diabet Metabol* 1999; 25: 241-245.

MATERIAL

I. GRUPO DE ESTUDIO

Nuestro grupo comprende un total de 238 personas distribuidas de la siguiente forma:

A. GRUPO CONTROL

Constituido por 94 sujetos sanos, escogidos entre acompañantes de enfermos hospitalizados, estudiantes de la Facultad de Medicina, médicos del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y algunos de sus familiares.

La edad osciló entre 19 y 86 años, 46 eran hombres y 48 mujeres.

En ninguno de ellos había antecedentes de diabetes mellitus y no estaban tomando ningún tipo de medicación o tomaban alguna dieta especial.

A todos ellos se les comunicó el estudio al que iban a ser sometidos, aceptándolo.

B. GRUPO DE DIABETES MELLITUS

Formado por 144 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus. Procedían de las consultas externas de Medicina Interna del Hospital Clínico San Cecilio de Granada y del Hospital de Motril.

Tras su inclusión en el estudio fueron distribuidos según el grado de nefropatía, atendiendo a los criterios de MOGENSEN¹.

1. Grado I-II

Lo componían 76 pacientes, es decir el 52.7% de los enfermos diabéticos, cuyas edades oscilaron entre 13 y 84 años, de los cuales 40 eran hombres (52.6%) y 36 mujeres (47.4%).

2. Grado III

Constituido por 47 pacientes, el 32.6% de los diabéticos, y sus edades estaban comprendidas entre 24 y 83 años, siendo 18 hombres (38.2%) y 29 mujeres (61.8%).

3. Grado IV

Estaba formado por 21 enfermos, el 14.5% de los pacientes que eran diabéticos, con unas edades que oscilaron entre 31 y 81 años, de los que 10 eran hombres (47.6%) y 11 mujeres (52.4%).

Tabla XIV

Estadios de la Nefropatía Diabética (Mogensen¹)

<p>GRADO I. Hiperfunción-Hipertrofia inicial</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hipertrofia e hiperfiltración glomerular - Excreción normal de albúmina
<p>GRADO II. Lesiones glomerulares asintomáticas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Engrosamiento de la membrana basal y engrosamiento del mesangio - Excreción normal de albúmina
<p>GRADO III. Nefropatía incipiente</p> <ul style="list-style-type: none"> - Excreción aumentada de albúmina (microalbuminuria) - Elevación de la presión arterial
<p>GRADO IV. Nefropatía establecida</p> <ul style="list-style-type: none"> - Proteinuria > 0,5 gr/24 horas - Hipertensión arterial - Disminución de la filtración glomerular
<p>GRADO V. Insuficiencia renal terminal</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado urémico - Filtración glomerular inferior a 10 ml/min

II. PROTOCOLO

Tras el diagnóstico de diabetes mellitus, se rellenó un protocolo encaminado a determinar aspectos que podrían tener interés en la evaluación de los resultados. (ANEXO I).

A. TIPO DE DIABETES

En la anamnesis se reseñaba el tipo de diabetes que padecía el enfermo, el tiempo que llevaba, desde que fue diagnosticado y el tratamiento que seguía: insulina y tipo de insulina, antidiabéticos orales, dieta, etc.

B. TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO Y OTROS

Muchos pacientes diabéticos con nefropatía presentan hipertensión arterial, por lo que es importante indicar el fármaco antihipertensivo que estaba tomando y la dosis que seguía.

Se descartaron aquellos pacientes que seguían tratamiento con inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina por el efecto que estos tienen sobre la excreción renal de albúmina y de enzimas.

Igualmente y por la repercusión que podrían tener sobre la excreción urinaria de NAG, se anotó, cualquier otro fármaco que tomaron en el momento del estudio, con especial atención a los aminoglucósidos, antiinflamatorios no esteroideos, ciclosporina o terapia hormonal sustitutiva. Descartamos a dichos pacientes del estudio.

C. ENFERMEDADES CONCOMITANTES

Se excluyeron todos los pacientes que tenían hipertensión arterial, que no fueran diabéticos. Así mismo se descartaron los que padecían nefropatías parenquimatosas, síndrome nefrótico o pielonefritis. También se rechazaron los que tenían infección urinaria.

D. CONTROL BIOQUÍMICO BÁSICO

Encaminado fundamentalmente a evaluar la función renal. Se anotaron en el protocolo las siguientes determinaciones:

- Sangre: glucosa, creatinina, urea, ácido úrico, hemoglobina glicosilada.
- Orina: sedimento, microalbuminuria y creatinina.

E. DETERMINACIONES ESPECIALES

Se envió una muestra de orina de 24 horas al “Centro de Investigaciones Médicas Mora Lara” donde se determinó N-acetil beta glucosaminidasa.

ANEXO
PROTOCOLO CLÍNICO

Nombre:	Edad:	Sexo:
Historia Clínica:		

A) TIPO DE DIABETES

DM tipo 1	Tiempo evolución:	Insulina:
DM tipo 2	Tiempo evolución:	Antidiabéticos orales:
		Dieta:

B) TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO Y OTROS:

Antihipertensivos:	Tipo:	Dosis:
Otros fármacos:	Tipo:	Dosis:

C) ENFERMEDADES CONCOMITANTES:

D) CONTROL BIOQUIMICO BASICO

Sangre:	Glucosa:	Urea:	Creatinina:
	HbA _{1c} :	A. Urico:	
Orina:	Sedimento:	Microalbuminuria:	
	Creatinina:		

E) DETERMINACIONES ESPECIALES

Orina:	NAG:
--------	------

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E, et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32 (suppl. 2): 64-78.

MÉTODOS

I. DETERMINACIONES GENERALES DE LABORATORIO

Una vez obtenido el consentimiento del paciente, se le indica la forma adecuada de recoger la orina de veinticuatro horas, rechazando la primera micción del día de inicio de la recogida y conservando en un frasco de dos litros todas las orinas realizadas hasta el día siguiente a la misma hora, incluyendo la primera micción matutina. La orina debía ser conservada en el frigorífico hasta su entrega en el hospital.

Durante ese día se le recomienda una actividad física normal y que se abstenga de tomar algún fármaco no indicado para el control de su hipertensión o su diabetes.

En la mañana de terminar la recogida de orina, se le realizaba al paciente la extracción de sangre para el control analítico indicado.

Las muestras de sangre y orina de veinticuatro horas, eran enviadas para su análisis al laboratorio de nuestro hospital.

Existen diversas formas de evaluar la función renal, algunas sofisticadas como el aclaramiento de radionucleótidos; pero en la práctica clínica están universalizadas la creatinina sérica y el aclaramiento de creatinina. Además se estudian la creatinina en orina, la urea y el ácido úrico séricos.

A. CREATININA SÉRICA

Es el marcador de función renal más extendido aunque la interpretación de éste parámetro a veces es compleja. La creatinina es un metabolito del catabolismo muscular y sus niveles plasmáticos dependen de la masa muscular normal y, en menor medida, de la ingesta protéica (por este motivo puede variar levemente en relación al sexo, peso corporal y edad del sujeto).

B. ACLARAMIENTO DE CREATININA

Ofrece una buena estimación de la función renal, aunque en realidad su rentabilidad se debe al hecho de que la creatinina que se excreta por el túbulo (cuando debería sólo filtrarse), se compensa por un exceso en la determinación de la creatinina sérica.

La relación entre estos dos parámetros sigue una curva exponencial, lo que supone que a valores próximos al rango normal de creatinina, pequeñas variaciones del valor suponen grandes variaciones en la tasa de filtrado glomerular. Así mismo, con valores reducidos de la función renal, grandes cambios de creatinina implican pequeñas variaciones del filtrado glomerular.

Para complicar más la interpretación de la creatinina, el porcentaje de la misma excretado por el túbulo aumenta cuando disminuye el flujo de filtrado glomerular.

En definitiva, la creatinina sérica debe interpretarse con cautela y se recomienda la aplicación de fórmulas correctoras como la de Jelliffe,¹ expresándose sus resultados en ml/min/1,73 m².

Aclaramiento de creatinina = $[92-16 (\text{edad}-20) / 20] / \text{creatinina sérica}$.

Posteriormente y para atenernos a las normas internacionales (unidades del Sistema Internacional, SI), hemos multiplicado el resultado por el factor de conversión 0,01667, para expresarlo en ml/sg.

La muestra de orina de veinticuatro horas fue remitida inmediatamente tras su recepción, al Laboratorio de Investigaciones Médicas "Mora Lara" para la determinación de la NAG (N-acetil-β-glucosaminidasa), donde se procedió a su posterior análisis.

II. DETERMINACIONES ESPECIALES

A. METÓDICA DE RECOGIDA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS DE ORINA

A todos los sujetos estudiados se les explicaba personalmente la metódica de recogida de la muestra de orina, que debía ser llevada a cabo de la siguiente forma: a las ocho de la mañana del día indicado, evacuará la vejiga; a partir de entonces comenzará la recogida de las siguientes micciones durante las próximas veinticuatro horas (para lo cual se les proporcionaba un recipiente de plástico de dos litros de volumen), hasta las ocho de la mañana del día siguiente, que orinará por última vez.

La recogida de orina tiene indudablemente mayores dificultades, sobre todo en sujetos controles o en enfermos no ingresados, pues interfiere en las labores habituales

(trabajo, estudios, etc.); en éste último caso, la recogida se realiza aprovechando los fines de semana o los días festivos.

El análisis de muestras de veinticuatro horas pese a sus muchos inconvenientes, tiene indudables ventajas, tales como:

1. Evalúa la actividad enzimática en un ciclo biológico de un día, en el que intervienen factores derivados de la ingesta, cambios posturales, estrés...
2. Evita las posibles influencias que pueda ejercer el ritmo circadiano. En ninguna muestra se utilizaron sustancias estabilizantes o conservantes.

Una vez recogida la orina se mide en una copa graduada, anotando en el protocolo la diuresis total y las características macroscópicas (coluria, hematuria...). De dicha diuresis total, se toman tres muestras que se colocan en otras tantas bolsas de diálisis (bolsas de celofán), que son sometidas a diálisis frente a agua corriente durante veinticuatro horas, quedando ya la orina en condiciones de practicar la determinación enzimática.

Tras la práctica de la diálisis se mide la cantidad de orina (suele ser superior a la que colocamos previamente a la diálisis), y tomamos un mililitro con el que haremos la determinación enzimática. Para expresar la actividad enzimática habrá que multiplicar por el factor de dilución de orina (fácil de calcular según una regla de tres, por ejemplo: si pusimos diez ml de orina y tras la diálisis hay dos, el factor será 1,2).

B. DETERMINACIÓN DE N-ACETIL- β -GLUCOSAMINIDASA (NAG)

Para la determinación de la actividad de la N-acetil- β -glucosaminidasa en orina de 24 horas, seguimos el método espectrofotométrico de Horak y cols.²

La NAG es separada de los inhibidores urinarios mediante filtración en columna cromatográfica de Sephadex G-25.

Posteriormente, se utiliza el substrato p-nitrofenil-N-acetil- β -D-glucosaminidasa y el citrato sódico a pH de 4,4. Tras un período de incubación de 15 minutos a 37°C, se produce la hidrólisis enzimática y la liberación del ión p-nitrofelinato. Se detiene la

reacción al añadir 2-amino-2-metil-1-propanol (pH 10,25), y el producto de la reacción es medido por espectrofotometría a 405 nm de longitud de onda.

La actividad urinaria de NAG es proporcional a la absorbancia del ión p-nitofelinato liberado.

1. Equipo

Columna cromatográfica de 250 nm de longitud y 10 mm de diámetro. Contiene 5,6 ml de Sephadex 25-G (20-80 μm), suspendida en ClNa 0,15 M.

- Espectrofotómetro "Photometer aton-380 DATA" test.
- Semi-microcubetas de espectro visible de 1 cm de espesor.
- Centrífuga de mesa "Clino-Orto".
- Baño con termostato, graduado a 37°C.
- Cronómetro.
- Tubos de ensayo.

2. Reactivos

- Solución de cloruro sódico al 0,15 M.
- Solución de ClNa 0,15 M + NaN_3 3,1 M.
- Ácido cítrico 0,2 M (8,4 gr de monohidrato) de peso molecular (p.m.), en agua destilada (200 ml), guardada a 4°C.
- Citrato sódico 0,2 M (10,3 gr de citrato trisódico anhidro de p.m. 258,1 en 200 ml de agua destilada, almacenada a 4°C).
- Citrato-buffer pH 4,4 a 0,1 M. Deben ponerse 56 ml de solución de ácido cítrico más 44 ml de solución de citrato. Se ajusta el pH a 4,4 añadiendo ácido cítrico o bien citrato. Debe completarse después con agua destilada a 200 ml y guardar a 4°C.

- Substrato NAG: disolver 342 mg de p-nitrophenil-N-acetil- β -D-glucosaminidasa (p-nitrophenil-2-acetimino-2-deoxy- β -D-glucosapyranoxide cat N° 9376, *Sigma Chemical Co.*), en 100 ml de buffer citrato. Distribuir en tubos de 5 ml y congelar a -20°C .
- AMP buffer, pH 10,25; 0,75 M: 18,84 gr de AMP buffer disueltos en 50 ml de agua destilada, ajustando después a pH 10,25 con NaOH 6 M (guardar a 4°C).
- p-Nitrofenol estandar: 1 ml de nitrofenol 10 M en 100 ml ClNa 0,15 M. Esta solución debe ser preparada antes de su uso.

3. Metódica

a) Muestra de orina

Deben centrifugarse 10 ml de orina reciente durante 10 minutos y decantar.

b) Cromatografía

Se deja salir la capa superior e inferior de la columna de Sephadex G-25. A continuación, lavar con ClNa y dejar escurrir completamente. Aplicar 1 ml de orina. Cuando se haya introducido totalmente, añadir 0,5 ml de ClNa como solución de lavado.

Debe permitirse que la columna discurra totalmente y decantar el eluato (1,5 ml). Colocar un tubo colector bajo la columna y añadir 2 ml de ClNa, permitiendo que el eluato (2 ml), drene totalmente en ese tubo.

Se regenera la columna pasando 25 de ClNa- NaN_3 a su través. Posteriormente, se llena la columna de ClNa- NaN_3 reemplazando las capas superior e inferior. Se guardará a temperatura ambiente.

c) Reacción enzimática

Se utilizarán cuatro cubetas de espectrofotómetro que denominaremos:

- S.....tubo estándar.
- RB.....tubo blanco de reactivo.
- UB.....tubo blanco de orina.
- U.....tubo de orina diluída de proporción.

Se producen los siguientes pasos:

	S	RB	UB	U
CINa	–	0,5 ml	–	–
p-nitrofenol	0,5 ml	–	–	–
Eluato de orina	–	–	0,5 ml	0,5 ml
Debe incubarse a 37°C durante 3 minutos:				
NAG substrato	0,5 ml	0,5 ml	–	–
Incubar a 37°C durante 15 minutos:				
AMP buffer	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
NAG substrato	–	–	0,5 ml	–

A continuación se mide la absorbancia de cada cubeta (colorimetrar), a 405 nm de longitud de onda. Si la absorbancia de la cubeta U es mayor de 1,8, se diluirá la orina a 1/5.

4. Cálculos

La actividad de la NAG expresada en U/l ($\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{l}$), se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{A (U-UB) \times (100 \mu\text{mol}/\text{l}) \times \text{Factor de dilución}}{A (S-RB) \times (\text{tiempo de incubación})}$$

En resumen:

$$\text{Actividad NAG} = \frac{A (\text{U-UB})}{A (\text{S-RB})} \times 13,13$$

Sin embargo, es más exacto expresar la actividad de NAG en Unidades por gr de creatinina eliminado.

III. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Se dispone de dos grupos de personas:

- **Grupo I:** SANOS que consta de 94 individuos.
- **Grupo II:** DIABÉTICOS CON NEFROPATÍA que consta de 144 pacientes divididos en los siguientes subgrupos:
 - a) Nefropatía Grado I-II: 76 pacientes
 - b) Nefropatía Grado III: 47 pacientes
 - c) Nefropatía Grado IV: 21 pacientes

En cada uno de estos grupos se han estudiado las siguientes variables:

- EDAD (EDAD)
- SEXO (SEXO)
- CREATININA SÉRICA (μ mol/l) (CS)
- ÁCIDO ÚRICO SÉRICO (μ mol/l) (ÚRICO)
- ACLARAMIENTO CREATININA (ml/min) (ACLA)
- CREATININA ORINA (m mol/día) (CO)
- MICROALBUMINURIA (μ mol/ml) (MA)

- HEMOGLOBINA GLICOSILADA (%) (HbA1c)
- N-ACETIL- β -GLUCOSAMINIDASA (U/g creat) (NAG)

Para el tratamiento de la variable SEXO, que es cualitativa, se ha procedido a su codificación según el siguiente criterio:

- HOMBRE = 1
- MUJER = 6

Por lo tanto, por cada variable disponemos de cuatro muestras, correspondientes a los distintos grupos, y por la naturaleza de los mismos se tienen que las muestras son independientes.

Para realizar el estudio estadístico, una vez introducidos los datos en una hoja de cálculo, se ha procedido a su tratamiento estadístico mediante los paquetes: Microsoft Excel 2000 y SPSS v. 10.0, basado en textos de referencia.^{3,4}

OBJETIVOS Y MÉTODOS

A. CÁLCULO DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA EN CADA UNO DE LOS GRUPOS.

1. Observaciones sobre la desviación estándar

- La desviación estándar se construye partiendo de la hipótesis de que los argumentos representan la muestra de una población.
- La desviación estándar se calcula utilizando el método "insesgado" o "N-1".
- La fórmula es la siguiente:

$$s = \sqrt{\frac{n\sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}}$$

donde n es el tamaño muestral.

2. Observaciones sobre el error estándar de la media

Se define así a la cantidad $\frac{s}{\sqrt{n}}$, que es la desviación típica de la v.a. \bar{X} de una muestra de tamaño n .

B. COMPARACIÓN DE LAS MEDIAS DE CADA VARIABLE EN EL GRUPO I, GRUPO II Y SUBGRUPOS A, B Y C

Con esto se pretende ver si son significativas las diferencias de cada variable en cada uno de los grupos.

Teniendo en cuenta lo dicho sobre la independencia de las muestras, los casos posibles que se presentan son:

Variabes	Muestras independientes	Varianzas
<i>Normales</i>	ANOVA1	Iguales
	Transformaciones estabilizadoras de la varianza Métodos especiales	Distintas
<i>Cualesquiera</i>	Test de Kruskal-Wallis	

Así que el primer paso consistió en estudiar la Normalidad de las variables cuantitativas (todas menos SEXO). Para ello se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors, que consiste en una particularización de la prueba de Kolmogorov-Smirnov para el caso en que la distribución esperada sea la Normal, siendo más preciso que éste.

Para las variables que no sea aceptada su normalidad, se les aplicará el Test de Kruskal Wallis, que contrastará la igualdad de las distribuciones de los cuatro grupos.

Para las variables que se pueda aceptar la normalidad se hará la prueba de igualdad de varianzas, mediante el cálculo del estadístico de Levene. Si el contraste da significativo, es decir, no se acepta la igualdad de varianzas, se procederá a buscar una transformación estabilizadora de las mismas o a aplicar un método especial.

En aquellos casos en los que el Test de Kruskal-Wallis o el ANOVA1 de significativo (no sea aceptada la igualdad de las distribuciones de los cuatro grupos de personas o la igualdad de sus medias, respectivamente), se hará la comparación por parejas mediante el Método de Newman-Keuls.

C. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE LAS DISTINTAS VARIABLES EN CADA UNO DE LOS GRUPOS

El coeficiente de correlación sirve para determinar si dos conjuntos de datos varían conjuntamente, es decir, si los valores altos de un conjunto están asociados con los valores altos del otro (correlación positiva), si los valores bajos de un conjunto están asociados con los valores bajos del otro (correlación negativa) o si los valores de ambos conjuntos no están relacionados (correlación con tendencia a cero). Consideraremos que son significativos para un valor absoluto de 0,35.

IV. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

El método utilizado para la obtención del material bibliográfico se ha apoyado en los siguientes sistemas de búsqueda en base de datos:

A. INTERNACIONAL

A partir del año 1984, realizamos una búsqueda informática a través del Servicio Medline en CD-ROM, utilizando las palabras claves: *Glucosylated haemoglobin*, *Glucosaminidase* y *Microalbuminuria*, cruzadas con *Diabetes*, *Nephropathy diabetic*.

B. ÍNDICE MÉDICO ESPAÑOL

Recoge toda la bibliografía publicada en español desde el año 1975.

Usamos las palabras claves: *enzimas urinarios* y *glucosaminidasa*, cruzadas con *diabetes*, *nefropatía diabética*.

Una vez conseguidos los resúmenes, procuramos acceder a las publicaciones más interesantes en la Biblioteca Biosanitaria de la Facultad de Medicina de Granada, así como de otros centros concertados con ésta.

Las citas bibliográficas se exponen por orden de aparición en el texto y de acuerdo con las normativas establecidas por el Comité Internacional de Revistas Médicas.⁵

V. MÉTODOS DE REDACCIÓN Y ESTILO

Para la terminología habitual se han seguido las normas de los Diccionarios de la Real Academia de la Lengua,⁶ el de María Moliner⁷ y el de Doyma Masson,⁸ para el uso adecuado del español.

Para la terminología médica utilizamos el Diccionario Mosby de la Salud (15), el Diccionario Terminológico Roche,⁹ y el Diccionario de la Editorial Mason.¹⁰

En la estructuración del Trabajo de Investigación y Tesis Doctoral seguimos las normativas recomendadas por Sierra,¹¹ Serna,¹² Hernández Vaquero¹³ y García Román,¹⁴ para lo que seguimos normas uniformes adoptadas por las Revistas Médicas¹⁵ y las actuales del Sistema Internacional (SI).¹⁶

VI. SISTEMAS DE UNIDADES DE MEDIDA

Los avances en la Biología Electromecánica han determinado la introducción de nuevas unidades de medida.

En 1971 se crea el Sistema Internacional de Medidas o "SI", cuyas unidades básicas son siete: metro, kilogramo, segundo, ampére, kelvin, candela y mol.

Este sistema es muy flexible al emplear prefijos para formar múltiplos o divisores de sus unidades.

Se estableció en las revistas internacionales de renombre¹⁷ a partir de 1980, y se recomendó a partir de entonces por el Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas.¹⁸

Si tenemos en cuenta que nuestros aparatos de medida y los métodos habituales de laboratorio siguen dándonos los resultados en las antiguas unidades, aplicamos un factor de corrección en cada unidad, ya previamente establecido.¹⁹

A continuación y en la Tabla XV, exponemos los factores de conversión en unidades SI de los parámetros que hemos utilizado:

Tabla XV
Límites de referencia y conversión en unidades "SI"

Constituyente	Espécimen	Límites de referencia	Factor de conversión	Unidades del SI
Creatinina	Orina	1,0-1,9 g/l	8,8	mmol/dl
Creatinina	Suero	0,6-1,2 mg/dl	88,4	μmol/l
Aclaramiento de creatinina	Suero/orina	75-125 ml/min	0,01667	ml/sg
Ácido Úrico	Suero	2,0-7,0 mg/dl	59,48	μmol/l

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Jelliffe RW. Creatinine clearance bedside estimate. *Ann Intern Med* 1973; 79: 604-605.
- ² Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- β -glucosaminidase activity. *Clin Chem* 1981; 27: 1180-1185.
- ³ Martín Andrés A, Luna del Castillo J de D. *Bioestadística para las Ciencias de la Salud*. Granada: Norma; 1990.
- ⁴ Ferránz Aranaz M. *SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico*. México: McGraw Hill de Informática; 2000.
- ⁵ Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados para publicación en revistas biomédicas. *Med Clin* 1997; 109: 756-763.
- ⁶ *Diccionario de la Real Academia de la Lengua*. Madrid: Espasa Calpe; 1990.
- ⁷ Moliner M. *Diccionario del uso del Español*. Madrid: Gredos; 1991.
- ⁸ *Medicina Clínica. Manual de estilo*. Barcelona: Doyma; 1993.
- ⁹ *Diccionario Roche*. Barcelona: Doyma; 1994.
- ¹⁰ *Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas*. Barcelona: Masson; 1992.
- ¹¹ Sierra Bravo R. *Tesis doctorales y trabajos de investigación científica*. Madrid: Paraninfo; 1986.
- ¹² Serna A, Serna MP. *La tesis doctoral de medicina*. Madrid: Diaz Santos; 1995.
- ¹³ Hernández Vaquero D. *El artículo científico en biomedicina. Normas para la publicación de trabajos*. Barcelona: Ciba-Geigy; 1997.
- ¹⁴ Garcí Román JL. *Cómo elaborar un proyecto de investigación*. Murcia: Universidad de Alicante; 1995.
- ¹⁵ International Steering Committee Of Medical Editors. Uniform requeriments for manuscripts submitted to biomedical journals. *Br Med J* 1977; 1: 532-535.
- ¹⁶ Miralles EM, Bergón E, Pascual T. Tablas con límites de referencia en unidades tradicionales y del sistema internacional. *Rev Clin Esp* 1995; 196: 96-103.
- ¹⁷ Scully RE, Mcneely BH, Galdabini JJ. Clinicopathological exercises. *N Engl J Med* 1980; 302: 37-48.

- ¹⁸ International Committee Of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journal. *Ann Intern Med* 1982; 96: 766-771.
- ¹⁹ Laposata M. SI unit conversion guide. Boston: NEJM Books; 1997.

RESULTADOS

I. CASUÍSTICA

Los grupos de estudio se han distribuido en controles sanos y pacientes diabéticos, divididos según el Grado en el que se encontraba la nefropatía.

En la Tabla XVI se muestran todos los datos recogidos en los sujetos sanos tomados como controles normales.

En la Tabla XVII se recogen los datos obtenidos en los pacientes con nefropatía diabética en Grado I y II, de la clasificación de Mogensen.

Así mismo en la Tabla XVIII se presentan los resultados de los enfermos con nefropatía en Grado III.

Por último en la Tabla XIX recogemos los datos del estudio de los pacientes diabéticos en Grado IV.

II. ESTUDIO ESTADISTICO

Con relación a la edad, en la Tabla XX y en la Figura 1 se pueden observar la media, DE, EEM de cada uno de los diferentes grupos de estudio.

El numero de casos según el sexo y su proporción lo expresamos en la Tabla XXI y Figura 2.

A. COMPARACIÓN DE MEDIAS VARIABLE A VARIABLE

Los parámetros bioquímicos estudiados han sido:

1. Creatinina sérica

Los resultados globales del estudio estadístico se encuentran en la Tabla XXII y en la Figura 3.

2. Creatinina urinaria

La media, DE y EEM en cada uno de los grupos de pacientes con diabetes mellitus y en los controles sanos se expresan en la Tabla XXIII y Figura 4.

3. Aclaramiento de creatinina

Se expone en la Tabla XXIV y Figura 5. Conforme avanza el grado de nefropatía, el aclaramiento se hace menor, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los distintos grados de la nefropatía (Tablas XXX a XXXII) o entre los diferentes estadios de la nefropatía (Tablas XXXIII a XXXV).

4. Urea sérica

Los resultados obtenidos al realizar la media, DE y EEM son los que se expresan en la Tabla XXV y Figura 6.

5. Ácido úrico sérico

Se exponen en la Tabla XXVI y Figura 7. Al igual que con el aclaramiento de creatinina no existen diferencias significativas entre grupos, que exponemos en la Tablas XXX a XXXV.

6. Microalbuminuria

Los resultados globales del estudio se exponen en la Tabla XXVII y en la Figura 8. La comparación de los diferentes grupos entre controles sanos y diabéticos y entre los pacientes con nefropatía diabética se exponen en las Tablas XXX a XXXV.

7. N acetil beta-glucosaminidasa

De forma global los resultados que hemos obtenido se exponen en la Tabla XXVIII y Figura 9. La correlación de la actividad de NAG entre los controles sanos y los diferentes grupos de pacientes con nefropatía diabética se exponen en las Tablas XXX a XXXII. Por último la correlación entre los enfermos en diferente estado de su nefropatía en las Tablas XXXIII a XXXV.

Los controles sanos se comparan con los diabéticos en Grado I-II (Tabla XXX) con diferencias estadísticamente significativas entre ambos ($p < 0,02$).

Al comparar los controles sanos con los diabéticos en Grado III la significación fue para $p < 0,001$ (Tabla XXXI). Igual ocurre al comparar los sanos con los diabéticos en el Grado IV con $p < 0,001$ (Tabla XXXII).

También quisimos comparar los diferentes grupos de pacientes diabéticos. No se encuentran diferencias significativas entre los enfermos en Grado I-II y Grado III, como se expone en la Tabla XXXIII, entre los Grados I-II y Grado IV si existieron diferencias significativas ($p < 0,01$) (Tabla XXXIV), y entre los Grado III y Grado IV tampoco hay significación estadística (Tabla XXXV).

8. Hemoglobina glicosilada

En la Tabla XXIX y Figura 10 exponemos los datos referentes a esta determinación analítica y la comparación entre grupos de controles sanos con diabéticos y entre diabéticos en las Tablas XXX a XXXV. Existieron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico cuando comparamos la hemoglobina glicosilada entre los controles sanos y los pacientes diabéticos Grupo I-II, Grupo III y Grupo IV ($p < 0.01$, $p < 0.001$ y $p < 0.005$ respectivamente) como se expresa en las Tablas XXX a XXXII. Sin embargo no se encontraron diferencias cuando comparamos los grupos de diabéticos entre sí (Tablas XXXIII a XXXV).

B. CORRELACION ENTRE VARIABLES

Se correlacionan las diversas variables del estudio: creatinina sérica, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina, microalbuminuria, NAG urinario, ácido úrico sérico y hemoglobina glicosilada.

En el grupo de controles sanos se encontró una correlación ($p < 0.05$) entre el aclaramiento de creatinina y NAG urinario y entre la creatinina sérica y el ácido úrico sérico (Tabla XXXVI).

En los pacientes con nefropatía Grado I-II de la clasificación de Mogensen observamos correlación entre los valores de creatinina urinaria y aclaramiento de creatinina, entre creatinina sérica y ácido úrico y sobre todo entre la hemoglobina glicosilada y la actividad urinaria de NAG ($p < 0.05$) como se puede comprobar en la Tabla XXXVII.

En la nefropatía Grado III la correlación fue de la creatinina sérica con el ácido úrico y de la hemoglobina glicosilada con la actividad urinaria de NAG (Tabla XXXVIII).

En los pacientes con enfermedad renal avanzada (nefropatía Grado IV) existieron múltiples correlaciones de los distintos parámetros estudiados como se puede observar en la Tabla XXXIX. Es de destacar la microalbuminuria y creatinina sérica con el resto de los datos bioquímicos y sobre todo de la hemoglobina glicosilada con el NAG urinario ($p < 0.01$)

De forma individualizada el aclaramiento de creatinina se correlaciona de forma significativa con el NAG urinario en los controles sanos (Figura 11), con la creatinina sérica en la nefropatía grado I-II (Figura 15), con ningún parámetro en la nefropatía Grado III (Figura 19) y con casi todos los parámetros en la nefropatía Grado IV (Figura 23).

El ácido úrico sérico se correlaciona de forma significativa con la creatinina sérica en los controles sanos (Figura 12), igual que en la nefropatía Grados I-II (Figura 16) y Grado III (Figura 20) y con la microalbuminuria y aclaramiento de creatinina en la enfermedad renal en estadio IV (Figura 24).

En la microalbuminuria solo encontramos correlación con casi el resto de los parámetros estudiados cuando la enfermedad renal está avanzada (Grado IV) como se observa en la Figura 25, pero no en los otros grupos (Figuras 13, 17 y 21).

Por último la actividad urinaria de NAG se correlacionó con el aclaramiento de creatinina y hemoglobina glicosilada en los controles sanos (Figura 14), y con la hemoglobina glicosilada en los pacientes diabéticos con nefropatía grados I-II (Figura 18), Grado III (Figura 22) y Grado IV (Figura 26).

Tabla XVI
Sujetos controles sanos

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	HBA1C (%)
1	14276	81	H	5,2
2	54301	37	M	4,5
3	15909	69	M	5,4
4	60210	37	M	4,3
5	16150	68	H	4,9
6	28588	61	H	4,8
7	00003	57	M	4,1
8	57090	69	H	5
9	61959	65	M	4,8
10	41435	55	M	5
11	58681	46	H	4
12	00017	67	M	4,1
13	27622	78	M	3,8
14	37914	56	H	3,9
15	51184	72	H	4,5
16	21754	51	H	4
17	54679	85	M	4,7
18	46933	76	H	5,2
19	50904	84	M	4,4
20	14492	59	H	4,5
21	41965	64	M	5,4
22	27897	62	M	4,3
23	65925	72	H	4,8
24	38877	51	H	4,7
25	64293	80	M	5,1
26	65914	72	H	5,2
27	55448	70	H	4,4
28	52669	55	M	4,2
29	23918	80	H	3,9
30	62889	72	H	4,2
31	54082	71	H	5
32	63259	79	M	5,7
33	25368	60	M	4,9
34	45750	67	H	4,5
35	37770	70	M	4,9
36	62461	64	H	4,4
37	65126	71	M	5,1
38	64534	59	H	5
39	11733	79	H	3,9
40	90748	77	M	4,9
41	21965	75	H	5,4
42	34253	60	M	4,6
43	63089	70	H	4,5
44	65614	63	H	4,7
45	54086	81	H	5,2
46	40248	75	H	4,5
47	00050	53	M	6,4

Tabla XVI (cont.)
Sujetos controles sanos

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	HBA1C (%)
48	55995	54	H	6,2
49	00052	65	H	4,8
50	11261	74	H	5,1
51	18909	65	H	4,3
52	17187	75	M	4,6
53	66092	55	H	9
54	29592	76	M	5
55	37283	73	H	4,5
56	54536	63	H	4
57	60589	80	H	4,9
58	20561	73	M	4,5
59	14751	48	H	4,8
60	65603	45	H	4,6
61	09372	72	M	5,4
62	51342	66	M	4,4
63	00101	71	M	5,1
64	00102	31	M	3,2
65	00103	60	H	4,6
66	00104	25	M	4,9
67	00105	45	H	4,8
68	00106	19	M	5
69	00107	63	H	4,2
70	00108	21	M	5,1
71	00109	81	M	4,9
72	00110	63	M	6
73	00111	21	H	4,2
74	00112	73	M	4,9
75	00113	22	M	5,8
76	00114	52	M	5
77	00115	22	M	4,9
78	00116	22	M	3,9
79	00117	76	M	6,1
80	00118	28	M	4,2
81	00119	21	M	4,8
82	00120	80	M	5,9
83	00121	32	H	6
84	00122	23	M	7
85	00123	23	H	4,5
86	00124	79	M	5,5
87	00125	86	H	4,5
88	00126	71	H	6,2
89	00127	21	M	3,9
90	00128	22	M	4,8
91	00129	64	H	6,3
92	00130	74	H	6,2
93	00131	21	M	5,6
94	00132	22	M	5,9

Tabla XVI
Sujetos controles sanos

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
1	91,05	8,27	3,60	225,42	1,94	5,90
2	78,67	5,45	1,16	202,20	11,59	2,70
3	102,54	1,76	2,57	373,53	6,03	7,00
4	96,35	10,03	0,95	223,05	3,04	17,30
5	106,08	8,62	2,43	311,67	8,04	5,60
6	91,93	8,36	2,39	293,23	1,43	8,70
7	91,93	5,01	2,16	257,54	5,56	4,20
8	113,15	11,61	2,33	431,80	5,29	2,50
9	68,95	3,96	3,51	186,76	3,14	4,20
10	76,02	2,90	2,47	287,28	5,82	9,00
11	102,54	8,53	1,36	406,24	6,90	6,50
12	98,20	3,08	2,57	314,05	2,21	7,10
13	74,25	13,81	4,20	243,27	24,18	13,50
14	112,26	15,04	1,72	299,00	2,74	5,80
15	117,57	8,80	2,38	440,15	145,39	9,70
16	101,66	5,28	1,64	383,64	22,24	5,50
17	124,64	4,31	2,80	508,55	10,25	11,00
18	114,03	5,80	2,64	277,17	1,60	9,40
19	80,44	4,22	4,27	307,50	4,08	11,20
20	92,82	5,28	2,26	281,53	6,29	7,80
21	102,54	6,33	2,31	386,62	47,7	12,30
22	84,86	4,57	2,66	227,21	11,32	7,80
23	125,52	9,85	2,23	346,76	3,35	8,50
24	83,09	8,18	2,00	264,01	5,69	7,80
25	105,19	6,86	3,06	357,47	11,39	9,70
26	97,24	7,04	2,87	176,06	2,88	5,50
27	132,60	3,25	2,03	360,44	1,07	4,00
28	69,83	6,16	2,69	162,97	2,81	14,50
29	110,50	3,78	2,92	341,41	4,62	25,60
30	129,06	7,04	2,16	560,30	4,48	8,20
31	93,70	5,10	2,92	393,75	1,40	12,50
32	91,05	5,28	3,48	404,46	2,47	4,10
33	83,09	4,57	2,59	246,84	3,08	10,20
34	129,94	5,19	1,94	411,00	9,38	26,10
35	79,56	7,04	3,38	277,77	2,01	9,70
36	106,90	8,71	2,21	337,25	2,41	2,10
37	91,93	2,28	2,98	215,91	1,80	4,20
38	76,02	4,04	2,76	322,38	1,47	28,40
39	83,98	5,54	3,78	477,62	1,60	12,00
40	88,40	3,96	3,46	259,95	40,33	2,80
41	99,00	3,16	2,98	425,28	11,18	18,60
42	77,79	10,20	2,76	463,94	3,28	7,00
43	89,28	12,49	3,01	262,30	2,88	13,60
44	96,35	8,62	2,40	274,20	1,13	3,00
45	129,90	5,10	2,52	512,12	55,67	15,80
46	61,88	5,80	4,78	350,90	5,22	5,70
47	62,76	5,89	2,82	207,58	4,75	18,30

Tabla XVI (cont.)
Sujetos controles sanos

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
48	104,31	10,03	1,75	312,86	4,69	16,90
49	84,86	3,52	2,85	333,68	5,09	22,20
50	97,24	13,37	2,98	315,83	5,96	6,40
51	91,05	5,36	2,66	308,10	5,82	34,70
52	88,40	6,33	3,34	234,94	6,03	12,70
53	106,08	5,19	1,77	297,99	0,67	15,00
54	73,37	2,55	0,41	242,08	5,56	28,20
55	112,26	10,52	2,53	299,77	1,47	14,60
56	67,18	10,03	3,48	277,17	18,02	15,20
57	90,16	4,66	3,57	401,50	1,80	8,80
58	101,66	9,68	2,80	396,73	1,54	8,50
59	76,90	7,21	1,96	346,17	11,65	12,50
60	79,56	16,72	1,69	442,53	7,83	5,10
61	68,95	1,67	4,05	286,25	1,13	14,20
62	68,95	3,69	3,58	214,12	2,34	9,00
63	61,88	13,20	4,43	190,33	4,62	15,00
64	70,72	9,68	0,83	249,81	14,47	1,28
65	70,72	1,76	3,04	291,45	5,76	2,23
66	106,08	4,75	0,25	350,93	6,16	2,90
67	79,56	11,44	1,69	303,34	13,46	11,20
68	53,04	9,68	0,10	321,19	2,68	8,70
69	79,56	12,32	2,90	237,92	4,62	23,00
70	61,88	8,80	0,09	368,67	3,21	1,13
71	106,08	6,16	3,09	469,89	13,40	4,50
72	88,40	14,08	2,61	285,50	10,85	25,50
73	61,88	11,44	0,09	333,08	21,50	2,50
74	88,40	5,25	3,22	356,88	3,28	18,30
75	79,56	10,56	0,13	297,40	4,22	1,98
76	70,72	9,68	2,43	273,60	18,88	2,01
77	70,72	10,56	0,15	285,50	18,35	1,92
78	79,56	7,04	0,13	416,36	3,28	2,19
79	79,56	5,28	3,78	249,81	13,66	16,50
80	53,04	6,16	0,81	303,34	17,65	2,60
81	44,20	13,20	0,12	297,40	14,00	2,89
82	106,08	5,25	3,04	231,97	3,28	9,26
83	88,40	12,32	0,72	349,81	11,65	2,68
84	79,56	7,04	0,20	309,29	16,95	2,80
85	88,40	9,68	0,18	243,86	13,33	2,08
86	97,24	3,52	3,26	344,98	13,66	30,20
87	53,04	11,44	6,70	463,94	4,89	34,00
88	88,40	7,92	3,10	410,41	3,08	27,30
89	79,56	7,04	0,07	273,60	12,26	2,14
90	53,03	7,92	0,20	309,29	14,33	2,12
91	70,72	8,80	3,34	256,88	4,02	8,76
92	88,46	8,80	3,28	416,36	2,27	9,16
93	61,88	5,00	0,09	294,45	4,15	9,01
94	44,20	5,25	0,24	273,60	4,02	6,30

Tabla XVII
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	TIPO DIABETES	HBA1C (%)
1	35877	46	H	2	7,20
2	16369	16	H	2	8,52
3	14273	78	M	2	8,50
4	31465	63	M	2	5,70
5	00009	51	M	2	8,60
6	26653	68	M	2	5,70
7	36023	84	M	2	5,40
8	19140	58	M	2	9,00
9	28718	75	H	2	5,30
10	38972	63	M	2	11,20
11	61009	52	M	2	7,50
12	25510	57	M	2	6,10
13	05937	68	M	2	7,20
14	00001	53	M	2	7,60
15	12485	70	M	2	8,80
16	23059	52	M	2	5,00
17	60032	41	H	2	5,00
18	09363	61	M	2	6,00
19	00002	53	M	2	8,40
20	00008	22	M	2	7,90
21	00010	21	H	2	6,10
22	30377	59	M	2	5,90
23	01958	18	M	2	8,10
24	00014	13	H	2	6,30
25	56484	29	H	2	7,50
26	00013	15	H	2	8,70
27	65273	58	M	2	8,60
28	44489	63	H	2	6,50
29	39208	15	H	2	7,60
30	45652	31	H	2	4,60
31	08546	62	M	2	6,00
32	61365	64	H	2	5,70
33	38745	19	M	2	8,40
34	00020	15	H	2	8,60
35	39708	18	H	2	5,00
36	63740	55	H	2	5,10
37	48490	64	M	2	8,00
38	15429	68	H	2	4,90
39	06427	83	H	2	4,40
40	42113	69	M	2	3,90
41	31404	67	H	2	5,10
42	04178	66	H	2	6,70
43	03086	3	H	2	8,70
44	58156	24	M	2	9,00
45	59890	75	H	2	8,90
46	52476	74	M	2	5,30
47	08085	64	H	2	7,80
48	31610	67	H	2	5,90

Tabla XVII (cont.)
 Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	TIPO DIABETES	HBA1C (%)
49	62391	66	H	2	8,30
50	55751	12	H	2	7,10
51	05185	69	M	2	7,60
52	46752	75	H	2	6,60
53	40380	76	H	2	7,60
54	60424	78	H	2	8,70
55	32490	52	H	2	6,50
56	51670	71	H	2	6,80
57	66823	53	M	2	4,20
58	29119	55	H	2	9,30
59	30955	69	H	2	7,00
60	65558	64	M	2	5,10
61	00035	60	M	2	8,30
62	67130	77	M	2	6,10
63	00030	37	M	2	5,80
64	51402	60	H	2	6,70
65	00031	62	H	2	5,80
66	48849	80	M	2	5,00
67	61961	52	H	2	9,00
68	03937	75	M	2	7,90
69	21599	82	M	2	6,60
70	26882	67	M	2	6,20
71	64802	78	H	2	5,20
72	64581	79	H	2	9,10
73	64298	70	M	2	8,70
74	38955	83	H	2	7,00
75	00061	66	H	2	9,00
76	40223	13	H	2	9,20

Tabla XVII
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
1	108,73	8,62	1,29	197,47	2,01	5,60
2	97,24	3,96	0,22	261,71	1,80	18,40
3	83,09	1,58	3,75	131,45	1,60	41,10
4	98,12	4,75	2,35	366,39	82,41	11,20
5	79,83	1,84	2,39	217,10	2,14	10,90
6	80,44	2,55	3,21	325,50	1,67	4,10
7	135,25	5,19	2,54	378,88	4,89	6,00
8	79,56	5,01	2,57	269,44	1,34	12,70
9	101,66	6,16	2,91	279,55	20,30	3,40
10	94,58	4,84	2,44	287,28	2,10	11,40
11	87,50	7,04	1,96	338,44	0,80	0,75
12	86,63	2,46	2,29	309,29	1,25	6,70
13	83,09	8,71	3,10	113,60	2,01	22,10
14	85,74	6,07	2,07	152,86	1,47	12,30
15	116,68	4,48	2,30	363,42	5,70	18,80
16	79,56	1,49	2,16	268,25	5,49	7,60
17	85,74	8,80	0,36	328,32	5,02	6,00
18	93,70	2,90	2,35	365,80	6,29	4,40
19	82,21	2,81	2,16	21,15	1,47	15,90
20	75,14	8,36	0,14	187,36	10,25	8,10
21	11,38	1,40	0,05	280,74	1,87	6,80
22	79,56	4,75	2,63	208,77	1,54	11,80
23	87,51	12,93	0,12	133,23	16,01	6,40
24	81,32	17,77	0,46	188,55	12,46	46,90
25	93,70	15,75	0,52	299,18	6,03	4,70
26	98,12	8,18	0,27	23,75	2,94	0,20
27	73,37	5,63	2,78	190,33	23,24	40,40
28	125,52	4,84	1,84	237,32	114,71	22,50
29	87,51	13,46	0,31	205,80	16,61	11,00
30	91,93	8,88	0,64	232,56	9,38	2,10
31	84,86	11,17	2,66	308,70	5,29	4,50
32	95,47	4,22	2,48	282,69	10,38	12,90
33	84,86	9,32	0,06	11,89	14,13	20,00
34	85,74	6,20	0,31	202,82	8,84	10,50
35	1,66	5,19	0,10	224,83	11,52	8,40
36	106,96	5,98	2,36	477,62	92,46	8,60
37	80,44	5,28	2,93	189,74	5,14	15,50
38	131,13	5,01	1,89	362,23	579,08	32,40
39	112,26	4,40	3,02	289,66	40,87	21,60
40	81,32	3,60	3,24	285,50	2,88	16,00
41	81,32	5,10	3,11	339,03	0,26	22,90
42	114,92	5,89	2,15	350,33	1,20	4,40
43	99,00	8,71	1,03	268,80	0,80	4,70
44	80,44	13,72	0,27	211,15	12,46	11,60
45	96,35	3,96	3,07	271,80	1,40	11,70
46	91,93	3,96	3,16	316,43	2,74	15,40
47	114,03	8,36	2,07	364,01	15,41	4,50

Tabla XVII (cont.)
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
48	92,82	9,24	2,72	305,13	21,77	0,19
49	120,22	4,04	2,06	325,95	9,51	40,20
50	71,60	3,87	0,60	157,62	2,34	15,00
51	83,98	1,05	3,13	195,68	3,61	10,80
52	106,96	4,48	2,76	424,09	15,00	12,10
53	91,93	4,22	3,27	383,64	1,87	8,50
54	98,12	8,80	3,18	438,90	5,30	60,70
55	99,00	9,15	1,74	419,33	2,47	4,20
56	120,22	7,92	2,27	352,71	16,34	4,50
57	80,44	6,42	2,20	245,50	2,14	6,90
58	84,86	7,83	2,22	151,67	42,21	4,70
59	79,56	2,20	3,31	376,50	45,56	15,60
60	76,90	0,04	3,07	331,89	1,40	4,80
61	76,02	2,64	2,83	24,90	1,47	5,60
62	76,02	1,93	4,03	232,56	3,88	2,60
63	97,24	3,78	0,94	295,02	1,74	4,40
64	121,99	6,07	1,76	303,34	3,48	12,70
65	89,28	4,13	2,52	320,00	204,55	15,50
66	73,37	2,11	4,39	149,23	2,10	14,20
67	93,70	6,51	1,83	218,88	3,68	19,40
68	72,48	2,02	4,08	205,16	3,81	16,90
69	73,37	3,87	4,54	377,70	6,43	47,90
70	81,33	5,28	3,11	352,12	76,71	22,00
71	84,86	0,08	3,67	317,62	81,00	16,20
72	88,40	4,48	3,58	210,55	4,62	7,60
73	97,24	5,72	2,76	334,87	3,88	30,30
74	92,82	5,28	3,65	229,02	32,16	6,00
75	98,12	5,45	2,52	278,36	11,99	9,00
76	65,41	7,65	0,57	164,75	1,80	14,80

Tabla XVIII
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	TIPO DIABETES	HBA1C (%)
1	39010	41	M	2	8,7
2	50412	58	V	2	8,1
3	33950	81	M	2	9,7
4	02929	78	M	2	6,7
5	36266	60	M	2	8,0
6	32813	56	V	2	8,0
7	50929	57	M	2	5,6
8	60024	58	M	2	8,9
9	04135	73	M	2	6,4
10	42661	65	V	2	9,2
11	52214	69	M	2	8,0
12	23544	72	M	2	6,9
13	15229	68	M	2	4,9
14	33280	69	V	2	5,1
15	25744	60	M	2	6,8
16	18416	57	M	2	7,5
17	00011	59	V	2	6,1
18	55450	56	M	2	8,5
19	51954	72	M	2	10,0
20	00006	30	V	2	8,4
21	00005	38	V	2	9,5
22	03403	47	V	2	9,5
23	52813	63	M	2	8,0
24	00012	57	M	2	10,1
25	41243	33	M	2	9,6
26	14583	60	V	2	4,7
27	30140	75	M	2	6,3
28	35163	66	M	2	9,4
29	34177	64	M	2	7,0
30	11893	46	V	2	7,4
31	31060	46	V	2	6,6
32	58036	24	M	2	6,3
33	00016	48	M	2	7,0
34	49489	78	M	2	8,8
35	53735	71	V	2	5,1
36	01946	46	V	2	8,2
37	00019	25	M	2	9,7
38	59169	76	M	2	8,4
39	62463	57	M	2	11,0
40	42910	64	M	2	5,0
41	58887	74	M	2	7,9
42	21293	62	V	2	2,3
43	14239	40	V	2	8,6
44	61172	67	V	2	8,6
45	35991	50	V	2	7,5
46	20518	83	M	2	6,8
47	33880	83	V	2	7,6

Tabla XVIII
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
1	76,02	4,31	1,48	126,89	2,81	22,00
2	82,21	4,13	2,48	278,76	724,27	12,90
3	125,52	5,45	2,61	324,76	16,61	7,00
4	87,51	2,11	3,56	241,48	10,38	22,90
5	112,26	4,40	1,91	248,62	14,00	4,00
6	86,63	15,50	2,23	270,03	21,44	25,20
7	87,51	3,96	2,27	271,22	2,01	8,60
8	74,25	4,92	2,75	155,24	1,70	13,50
9	106,08	1,76	3,16	238,45	335,00	24,50
10	89,28	5,98	2,71	220,67	54,47	36,70
11	88,40	4,84	2,99	329,51	2,01	0,40
12	131,71	1,84	2,12	283,12	676,70	10,80
13	81,32	3,78	3,17	284,90	5,60	15,10
14	104,31	9,68	2,52	446,69	27,73	37,40
15	90,16	3,25	2,38	234,94	10,65	5,10
16	88,40	0,75	2,25	303,34	83,08	1,70
17	109,61	9,68	1,91	40,26	57,21	11,00
18	6,18	10,47	2,88	199,25	2,01	6,10
19	82,21	3,52	3,40	157,62	10,25	12,20
20	101,66	11,70	0,53	206,99	3,75	1,20
21	93,70	11,00	1,03	209,96	8,30	10,20
22	83,98	6,68	1,73	170,11	4,75	9,70
23	83,98	2,81	2,75	227,80	8,91	16,00
24	72,48	4,31	2,74	221,26	83,61	22,00
25	79,56	2,02	0,88	142,75	10,25	13,40
26	141,44	1,23	1,51	295,02	157,85	60,70
27	94,58	5,19	3,12	215,91	11,12	28,40
28	93,70	5,45	2,64	320,00	14,40	11,00
29	90,16	4,84	0,03	317,62	11,32	4,90
30	86,63	4,48	1,61	328,92	2,41	8,60
31	97,24	4,04	1,44	420,52	100,50	22,80
32	91,05	7,92	0,24	230,18	11,99	9,40
33	88,40	8,97	1,70	206,99	13,26	10,70
34	82,21	3,25	3,79	192,12	17,21	8,90
35	96,35	3,52	2,84	257,54	17,41	13,00
36	97,24	15,04	1,44	245,65	4,75	10,60
37	75,14	5,45	0,36	232,56	16,14	15,00
38	81,32	2,90	3,70	204,01	10,85	9,70
39	87,51	2,90	2,27	236,13	5,49	9,00
40	7,79	2,90	3,04	176,65	131,32	51,20
41	90,16	3,87	3,22	359,51	16,21	7,70
42	123,76	1,32	1,82	243,27	192,96	14,80
43	82,21	4,13	1,31	232,56	16,14	43,30
44	118,45	1,93	2,13	262,90	95,81	44,00
45	94,58	6,60	1,70	339,63	4,55	12,00
46	93,70	1,84	3,61	329,50	47,57	12,30
47	140,55	5,36	2,41	368,18	18,35	26,70

Tabla XIX
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV

Nº	HISTORIA	EDAD (años)	SEXO	TIPO DIABETES	HBA1C (%)
1	56265	42	H	2	5,4
2	27409	81	M	2	6,2
3	62996	62	H	2	7,5
4	51360	64	M	2	0,9
5	47455	45	H	2	10,5
6	59336	56	M	2	7,5
7	00018	57	H	2	9,8
8	35238	31	H	2	8,0
9	63561	66	M	2	9,4
10	37885	60	M	2	7,6
11	40281	64	M	2	8,3
12	00618	64	M	2	9,3
13	64412	76	M	2	7,1
14	03541	69	H	2	8,4
15	66806	63	M	2	9,7
16	19184	63	H	2	7,6
17	44914	62	H	2	9,8
18	46957	61	M	2	7,2
19	12063	61	M	2	10,7
20	50528	72	H	2	7,2
21	68055	58	H	2	9,5

Tabla XIX
Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV

Nº	CREATIN SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	CREATIN ORINA (mmol/dl)	ACLARAM CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG ORINA (u/g creat)
1	85,74	5,57	1,38	385,43	29,74	8,70
2	89,28	4,48	3,67	236,73	21,97	15,70
3	104,31	4,22	2,60	295,02	30,15	15,40
4	98,12	3,78	2,41	317,62	7,50	6,00
5	162,65	2,72	0,82	423,49	691,44	36,40
6	83,98	8,36	2,30	238,51	2,50	8,90
7	122,87	8,09	1,62	355,09	663,97	29,50
8	105,19	4,75	0,56	237,32	2,21	17,40
9	83,09	4,48	2,97	85,65	10,45	26,20
10	75,14	3,52	2,86	199,85	101,84	31,50
11	73,37	1,93	3,22	149,88	175,07	31,40
12	81,32	2,55	2,91	199,23	8,44	10,00
13	83,98	2,64	3,58	202,23	7,57	39,60
14	101,60	4,75	2,59	245,65	58,22	19,80
15	71,60	2,37	3,23	251,00	11,72	15,90
16	431,39	2,28	0,53	180,22	552,75	46,10
17	109,61	6,33	2,06	277,17	14,20	14,40
18	82,21	6,33	2,68	179,03	20,70	6,60
19	154,70	3,52	1,42	429,44	95,79	60,00
20	76,90	6,42	3,63	173,09	7,90	4,10
21	139,67	7,39	1,46	420,52	457,61	18,20

Tabla XX
Distribución de la edad* en los diferentes grupos

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,0	76,0	47,0	21,0
M	58,9	55,6	59,1	60,8
DE	19,7	21,0	14,9	11,0
EEM	2,0	2,4	2,1	2,4

* Edad en años

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXI
Distribución de la edad* en los diferentes grupos

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Hombres	46 (48,9%)	40 (52,6%)	18 (38,2%)	10 (47,6%)
Mujeres	48 (51,1%)	36 (47,4%)	29 (61,8%)	11 (52,4%)

* Edad en años

Tabla XXII

Estudio de la creatinina sérica* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,0	76,0	47,0	21,0
M	87,5	92,0	93,8	115,0
DE	19,6	14,9	17,0	77,0
EEM	2,0	1,7	2,4	16,8

* Creatinina sérica en $\mu\text{mol/l}$

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXIII

Estudio de la creatinina urinaria* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,0	76,0	47,0	21,0
M	7,3	5,8	5,2	4,5
DE	3,3	3,3	3,3	1,9
EEM	0,3	0,3	0,4	0,4

* Creatinina urinaria en mmol/dl

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXIV
Estudio del aclaramiento de creatinina* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,00	76,00	47,00	21,00
M	2,33	2,19	2,22	2,29
DE	1,28	1,16	0,93	0,99
EEM	0,13	0,13	0,14	0,22

* Aclaramiento de creatinina en ml/seg

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXV
Estudio de la urea sérica* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,00	76,0	47,0	21,0
M	41,40	39,4	41,8	50,7
DE	12,70	9,4	11,9	31,7
EEM	1,32	1,0	1,7	6,9

* Creatinina urinaria en mmol/l

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXVI

Estudio del ácido úrico sérico* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,0	76,0	47,0	21,0
M	320,7	274,5	256,3	261,0
DE	81,3	80,6	68,7	96,5
EEM	8,3	9,2	10,0	21,0

* Ácido úrico sérico en $\mu\text{mol/l}$

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXVII

Estudio de la microalbuminuria* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,00	76,00	47,00	21,00
M	9,62	23,58	65,86	170,08
DE	16,86	71,82	148,69	260,61
EEM	1,74	8,24	21,69	56,87

* Microalbuminuria en $\mu\text{mol/ml}$

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXVIII

Estudio de la actividad del NAG urinario* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,00	76,00	47,00	21,00
M	10,31	14,26	16,79	21,99
DE	7,95	11,97	13,16	14,70
EEM	0,82	1,37	1,92	3,21

* NAG urinario en u/gr de creatinina

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXIX

Estudio de la hemoglobina glicosilada* en los grupos estudiados

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA DIABÉTICA		
		GRADO I-II	GRADO III	GRADO IV
Nº	94,00	76,0	47,0	21,0
M	4,90	7,0	7,8	8,1
DE	0,80	1,5	1,6	1,4
EEM	0,08	0,1	0,2	0,3

* Hemoglobina glicosilada en %

Nº: Nº de casos
M: Media
DE: Desviación Estándar
EEM: Error Estándar de la Media

Tabla XXX
Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grados I-II

	CONTROLES SANOS	NEFROPATÍA GRADOS I-II	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,33 ± 1,28	2,19 ± 1,16	0,323	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μmol/l)	320,7 ± 81,3	274,5 ± 80,6	0,079	NS
MICROALBU-MINURIA (μmol/ml)	9,62 ± 16,86	23,58 ± 71,84	9,788	< 0,002
NAG URINARIO (u/g creat)	10,31 ± 7,95	14,26 ± 11,97	5,196	< 0,020
HBA1C (%)	4,9 ± 0,8	7,0 ± 1,5	7,721	< 0,010

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXI
Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grado III

	CONTROLE S SANOS	NEFROPATÍA GRADO III	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,33 ± 1,28	2,22 ± 0,93	3,352	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	320,7 ± 81,3	256,3 ± 68,7	1,761	NS
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	9,62 ± 16,86	65,86 ± 148,69	32,749	< 0,0001
NAG URINARIO (u/g creat)	10,31 ± 7,95	16,79 ± 13,16	10,907	< 0,0010
HBA1C (%)	4,9 ± 0,8	7,8 ± 1,6	8,321	< 0,0010

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXII
Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grado IV

	CONTROLE S SANOS	NEFROPATÍA GRADO IV	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,33 ± 1,28	2,29 ± 0,99	0,824	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	320,7 ± 81,3	261,0 ± 96,5	1,141	NS
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	9,62 ± 16,86	170,08 ± 260,61	180,320	< 0,0001
NAG URINARIO (u/g creat)	10,31 ± 7,95	21,99 ± 14,70	17,347	< 0,0010
HBA1C (%)	4,9 ± 0,8	8,1 ± 1,4	8,932	< 0,0050

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXIII
 Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grados I-II y Grado III

	NEFROPATÍA A GRADOS I-II	NEFROPATÍA GRADO III	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,19 ± 1,16	2,22 ± 0,93	2,080	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μmol/l)	274,5 ± 80,6	256,3 ± 68,7	2,616	NS
MICROALBU- MINURIA (μmol/ml)	23,58 ± 71,84	65,86 ± 148,69	9,301	< 0,03
NAG URINARIO (u/g creat)	14,26 ± 11,97	16,79 ± 13,16	0,815	NS
HBA1C (%)	7,0 ± 1,5	7,8 ± 1,6	0,972	NS

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXIV
Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grados I-II y Grado IV

	NEFROPATÍA A GRADOS I-II	NEFROPATÍA GRADO IV	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,19 ± 1,16	2,29 ± 0,99	0,379	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	274,5 ± 80,6	261,0 ± 96,5	0,875	NS
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	23,58 ± 71,84	170,08 ± 260,61	69,172	< 0,0001
NAG URINARIO (u/g creat)	14,26 ± 11,97	21,99 ± 14,70	4,721	< 0,0100
HBA1C (%)	7,0 ± 1,5	8,1 ± 1,4	2,390	NS

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXV
Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III y Grado IV

	NEFROPATÍA GRADO III	NEFROPATÍA GRADO IV	F	P
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	2,22 ± 0,93	2,29 ± 0,99	0,255	NS
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	256,3 ± 68,7	261,0 ± 96,5	3,271	NS
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	65,86 ± 148,69	170,08 ± 260,61	14,222	< 0,0001
NAG URINARIO (u/g creat)	16,79 ± 13,16	21,99 ± 14,70	0,799	NS
HBA1C (%)	7,8 ± 1,6	8,1 ± 1,4	0,935	NS

F: F Experimental

P: Nivel de significación

Tabla XXXVI
Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de Controles Sanos

	ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	NAG URINARIO (u/gr de creatinina)
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	–	0,0638	-0,0610	0,4085*
CREATININA URINARIA (mmol/dl)	-0,1518	0,0188	0,0618	-0,1086
CREATININA SÉRICA (μ mol/l)	0,1074	0,3971*	0,1513	0,0695
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	-0,0610	0,2005	–	-0,0451
NAG URINARIO (u/gr de creatinina)	0,4085*	0,0679	0,0451	–
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	0,0638	–	0,2005	0,0679
HBA1C (%)	0,0213	0,1742	0,1972	0,3003

* Coeficiente de Correlación significativo < 0,05

Tabla XXXVII

Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

	ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	NAG URINARIO (u/gr de creatinina)
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	–	0,2538	0,0143	0,2114
CREATININA URINARIA (mmol/dl)	-0,5380**	-0,1230	-0,0512	0,0045
CREATININA SÉRICA (μ mol/l)	-0,1534	0,4558**	0,3299	-0,0047
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	0,0143	0,1977	–	-0,1870
NAG URINARIO (u/gr de creatinina)	0,2114	0,0105	0,1870	–
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	0,2538	–	0,1977	0,0105
HBA1C (%)	0,0399	0,1274	0,1903	0,4261*

* Coeficiente de Correlación significativo < 0,05

** Coeficiente de Correlación significativo < 0,01

Tabla XXXVIII

Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III

	ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	MICROALBU- MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	NAG URINARIO (u/gr de creatinina)
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	–	0,0210	0,0606	0,0732
CREATININA URINARIA (mmol/dl)	-0,3235**	0,0101	-0,2661	-0,1878
CREATININA SÉRICA ($\mu\text{mol/l}$)	-0,1131	0,4373**	0,2880	0,2434
MICROALBU- MINURIA ($\mu\text{mol/ml}$)	0,0606	0,0946	–	0,1059
NAG URINARIO (u/gr de creatinina)	0,0732	0,0475	0,1059	–
ÁC. ÚRICO SÉRICO ($\mu\text{mol/l}$)	0,0210	–	0,0946	0,0475
HBA1C (%)	0,1371	0,2243	0,1795	0,5254**

** Coeficiente de Correlación significativo < 0,01

Tabla XXXIX

Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV

	ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	NAG URINARIO (u/gr de creatinina)
ACLARAM. CREATININA (ml/seg)	—	0,5662**	0,6070**	0,3119
CREATININA URINARIA (mmol/dl)	-0,1162	0,2174	-0,0249	-0,4515*
CREATININA SÉRICA (μ mol/l)	0,6110**	0,0894	0,5857**	0,5126**
MICROALBU- MINURIA (μ mol/ml)	0,6070**	0,5826**	—	0,7052**
NAG URINARIO (u/gr de creatinina)	0,3119	0,1698	0,7054**	—
ÁC. ÚRICO SÉRICO (μ mol/l)	0,5662**	—	0,5826**	0,1698
HBA1C (%)	0,4276*	0,3246	0,4287**	0,6349**

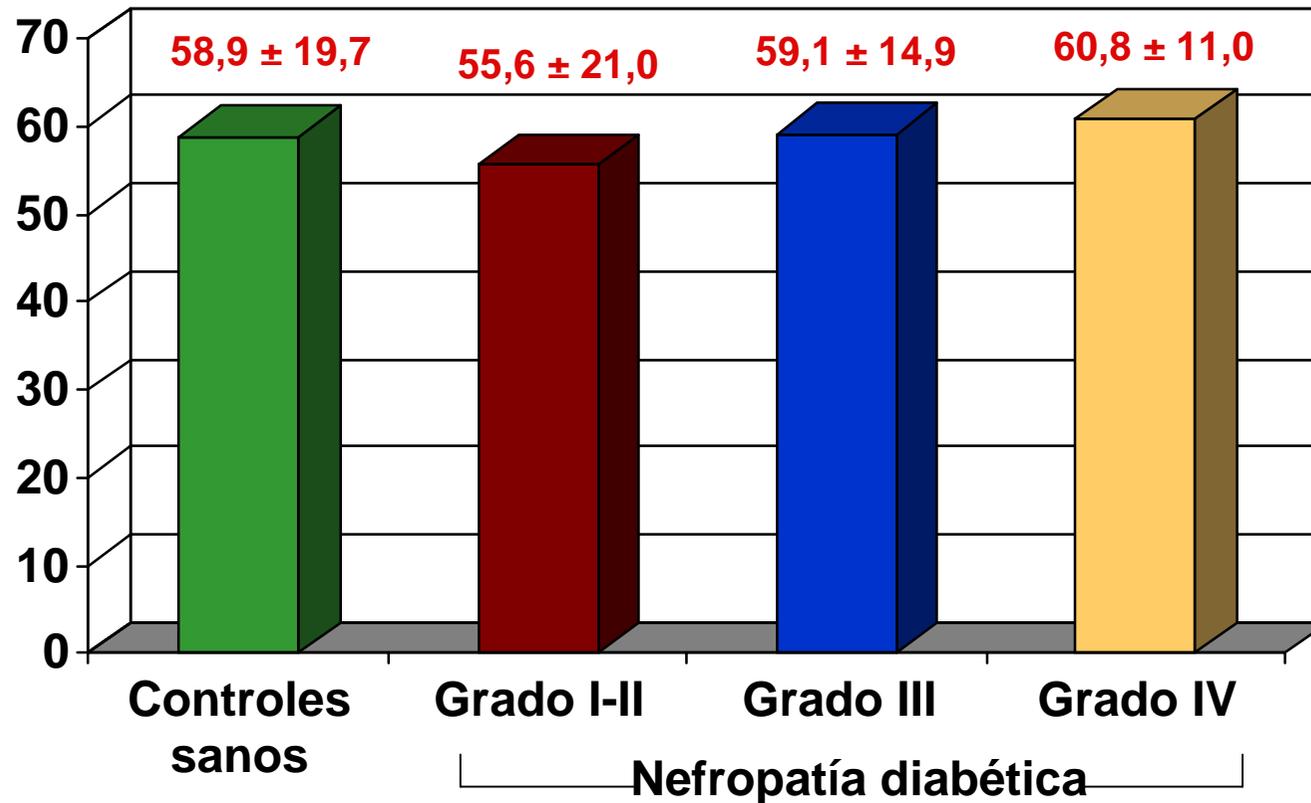
* Coeficiente de Correlación significativo < 0,05

** Coeficiente de Correlación significativo < 0,01

Figura 1

Nefropatía diabética

Distribución de la edad* en los grupos estudiados



* Edad en años

Figura 2

Nefropatía diabética

Distribución de los casos estudiados según el sexo

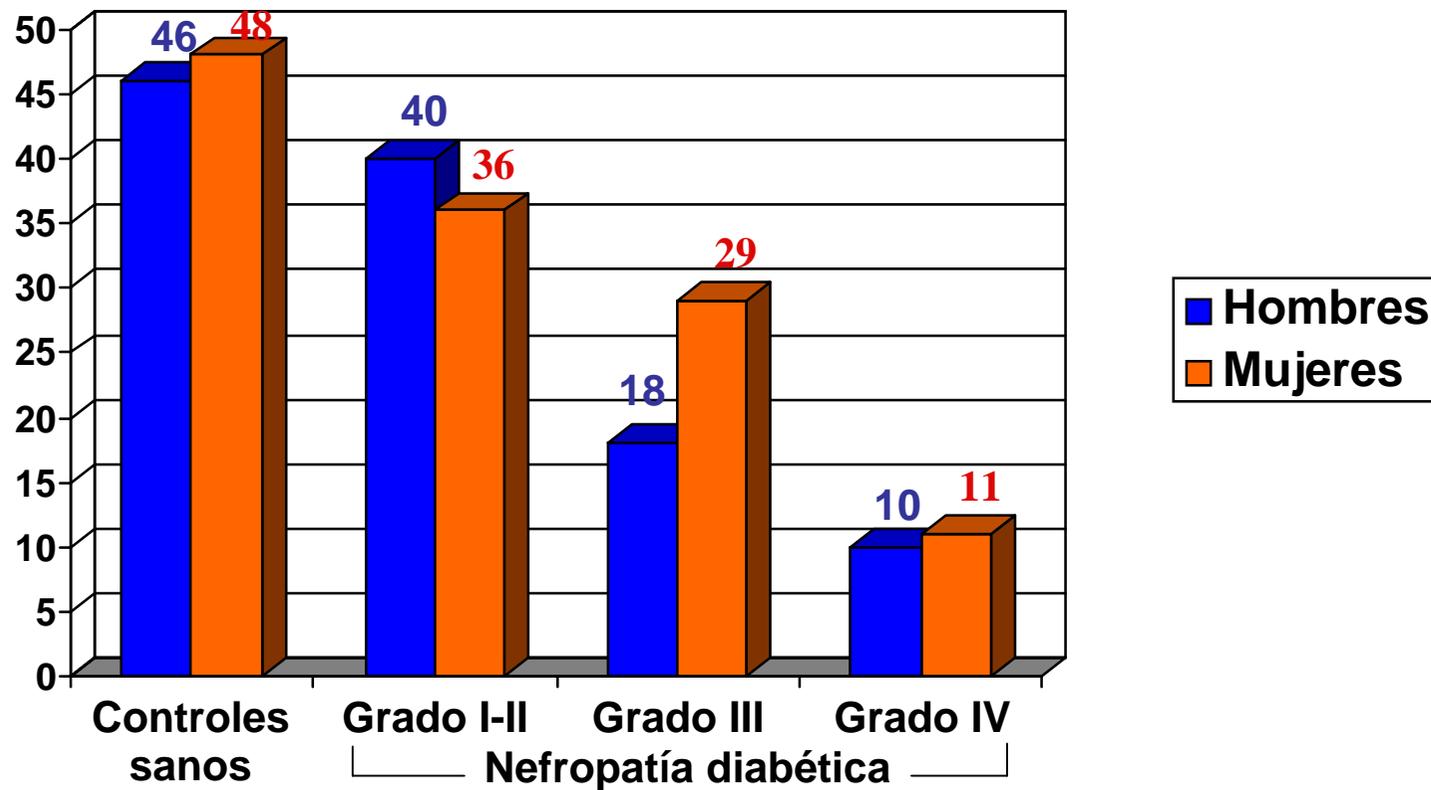
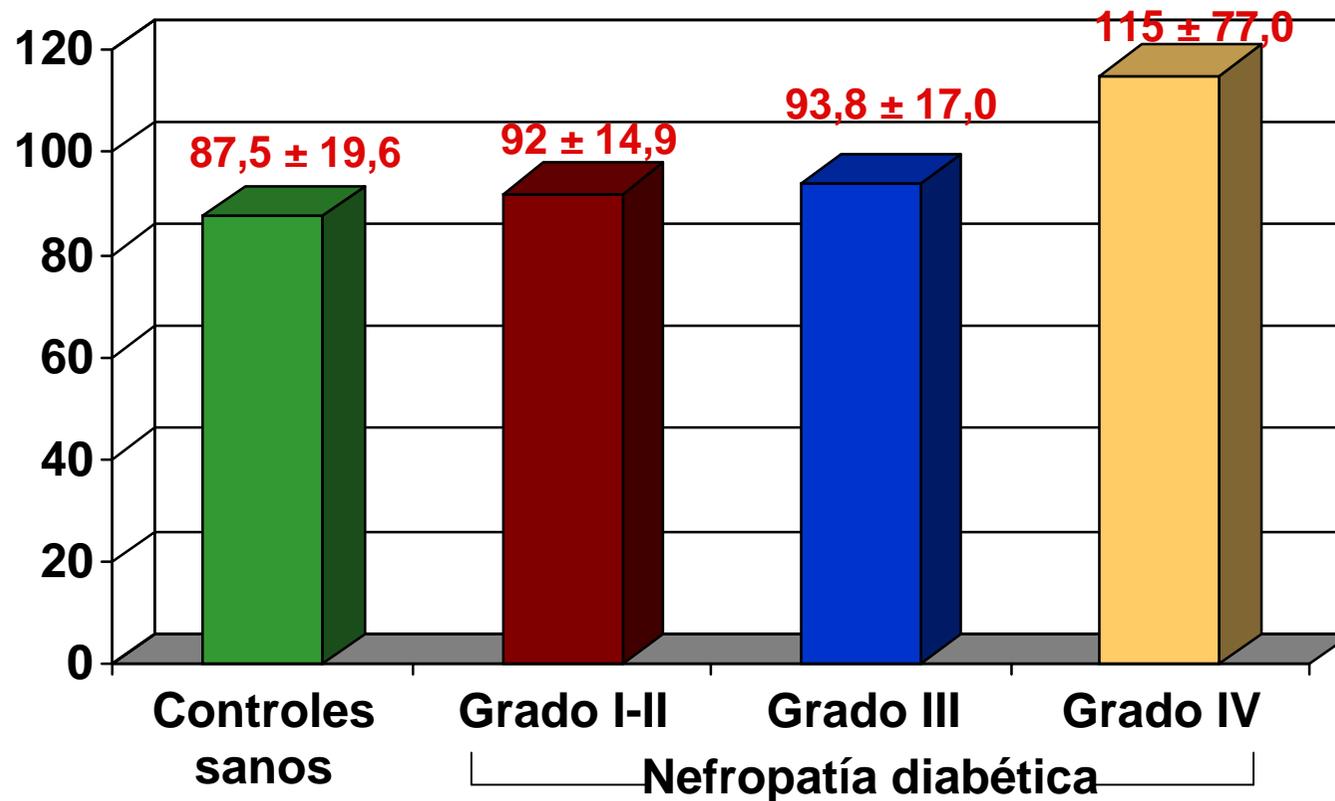


Figura 3

Nefropatía diabética

Creatinina sérica* en los grupos estudiados

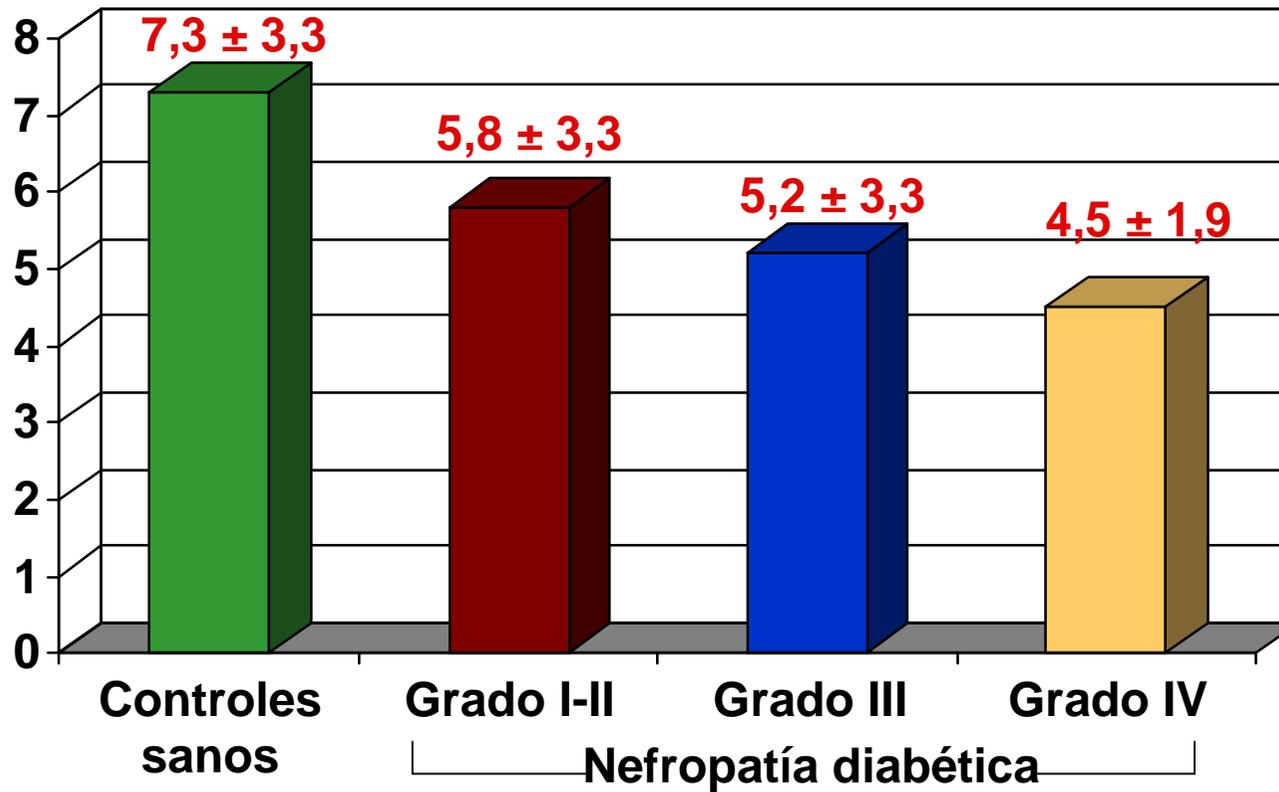


* Creatinina sérica en $\mu\text{mol/l}$

Figura 4

Nefropatía diabética

Creatinina urinaria* en los grupos estudiados

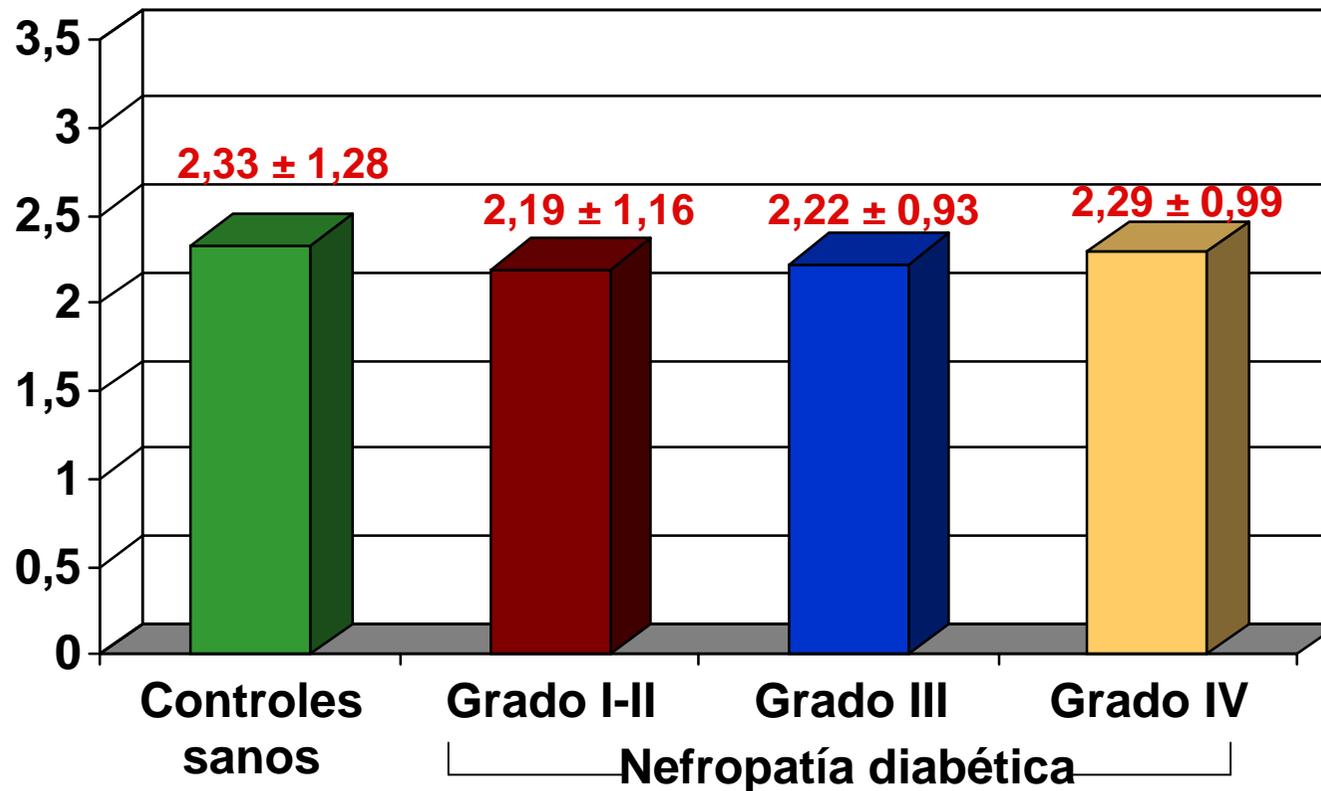


* Creatinina urinaria en *mmol/dl*

Figura 5

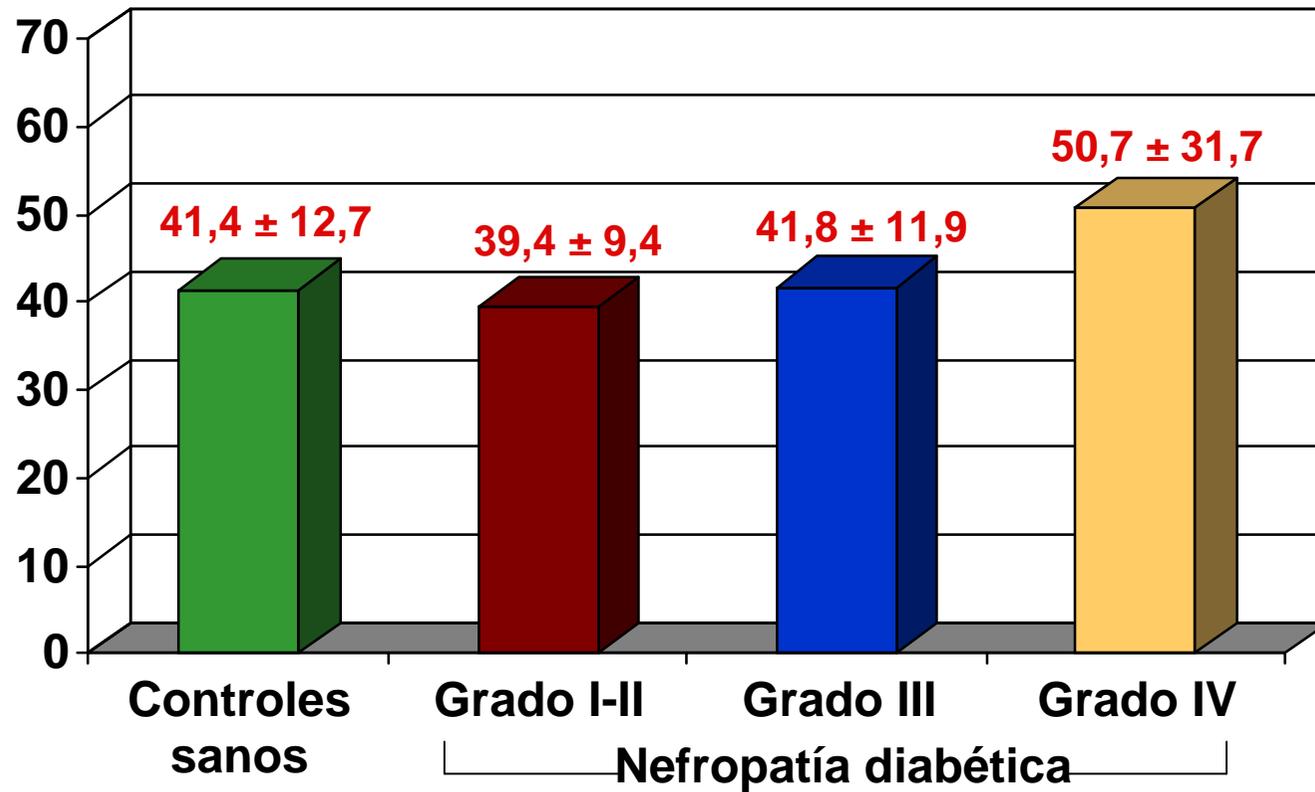
Nefropatía diabética

Aclaramiento de creatinina* en los grupos estudiados



* Aclaramiento creatinina en ml/seg

Figura 6
Nefropatía diabética
Urea sérica* en los grupos estudiados

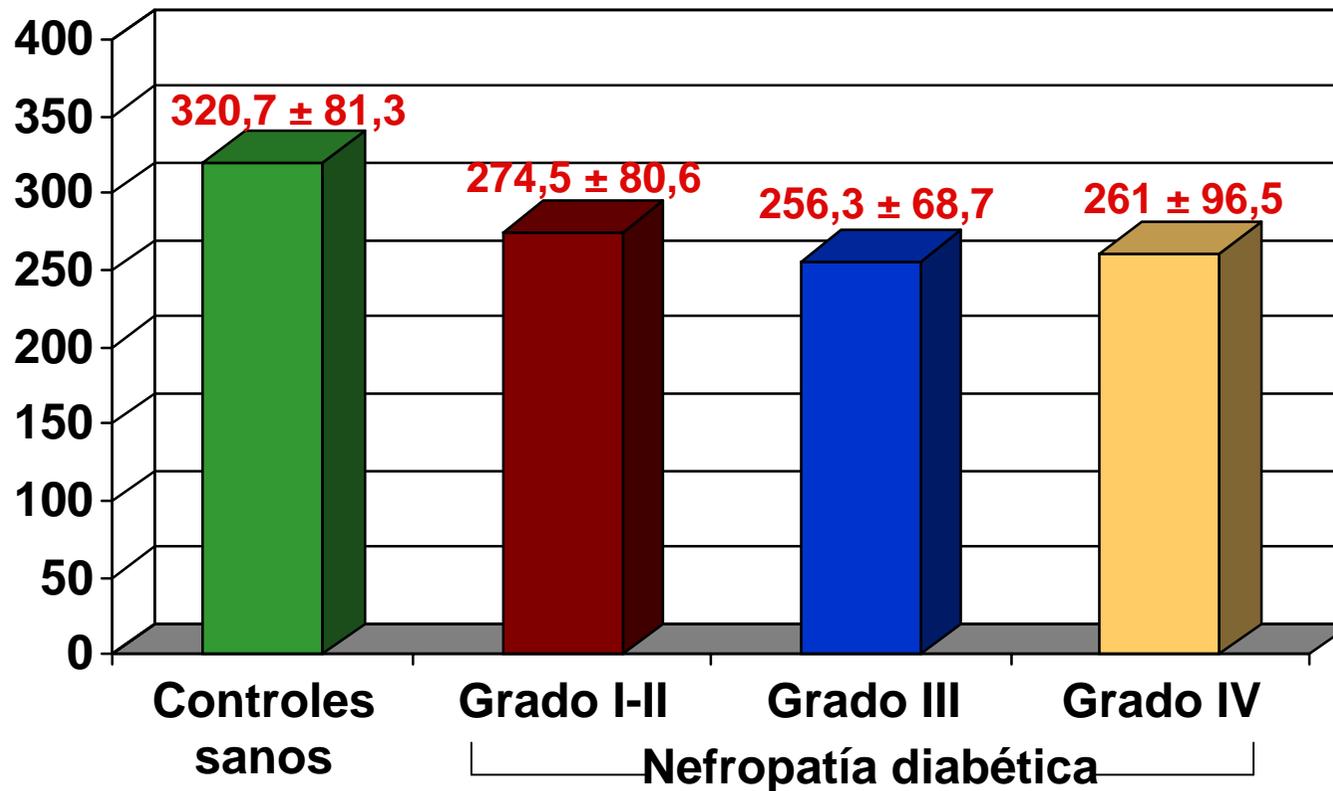


* Urea sérica en *mmol/l*

Figura 7

Nefropatía diabética

Ácido úrico sérico* en los grupos estudiados

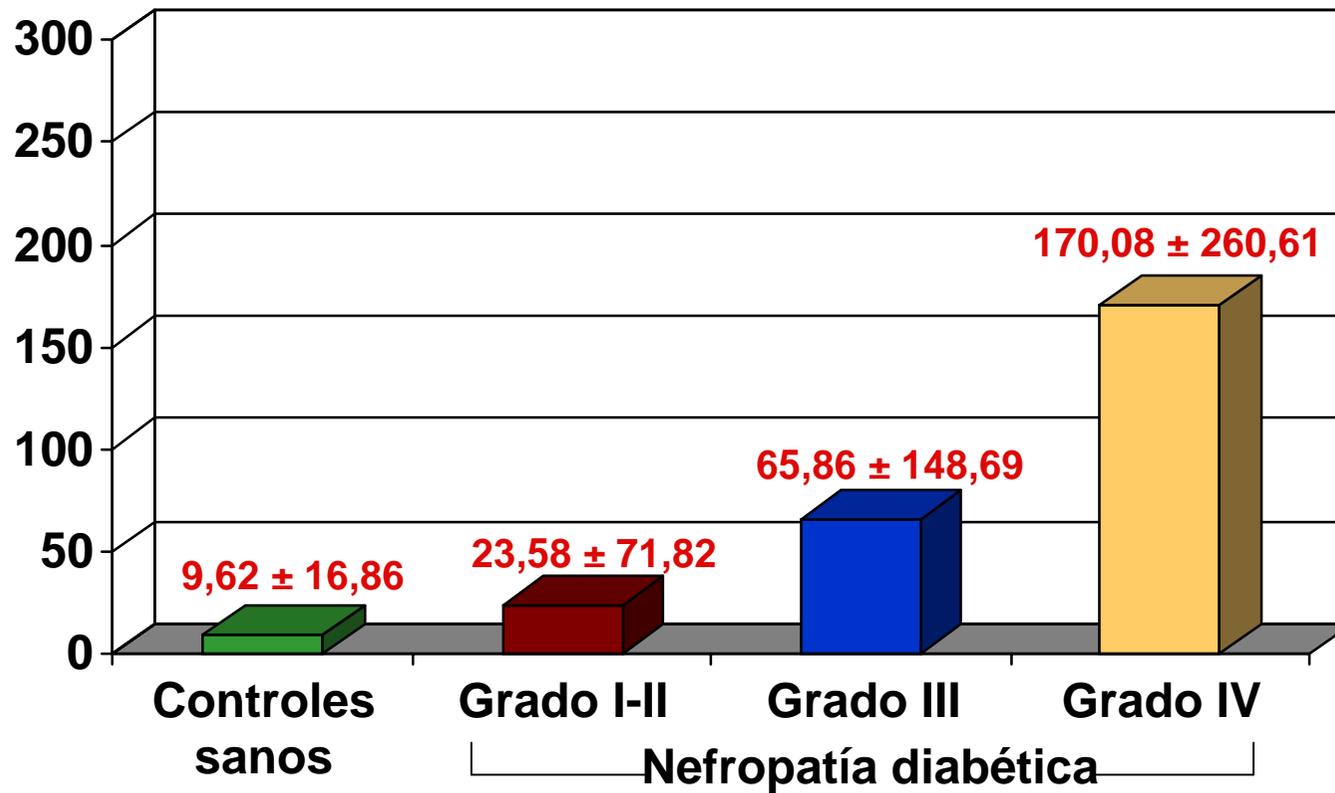


* Ácido úrico sérico en $\mu\text{mol/l}$

Figura 8

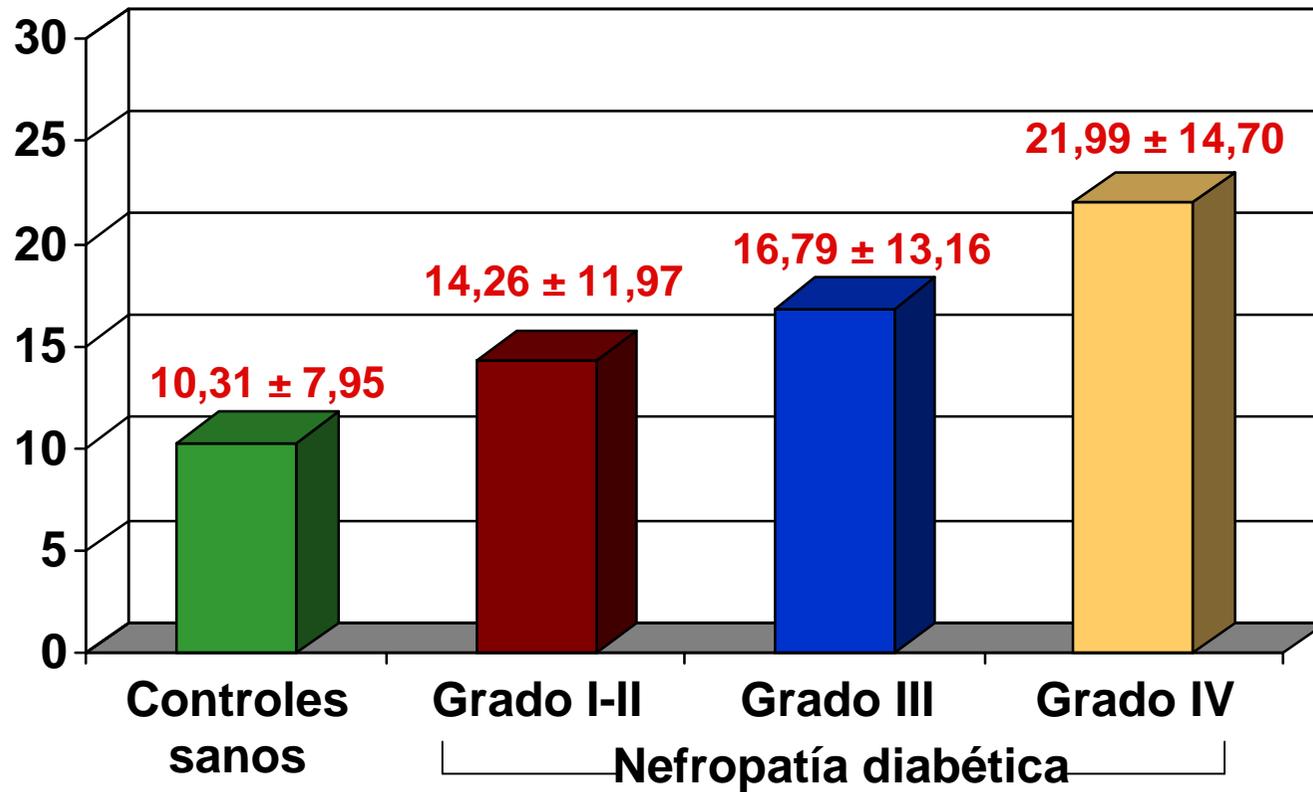
Nefropatía diabética

Microalbuminuria* en los grupos estudiados



* Microalbuminuria en $\mu\text{mol/l}$

Figura 9
Nefropatía diabética
NAG urinario* en los grupos estudiados

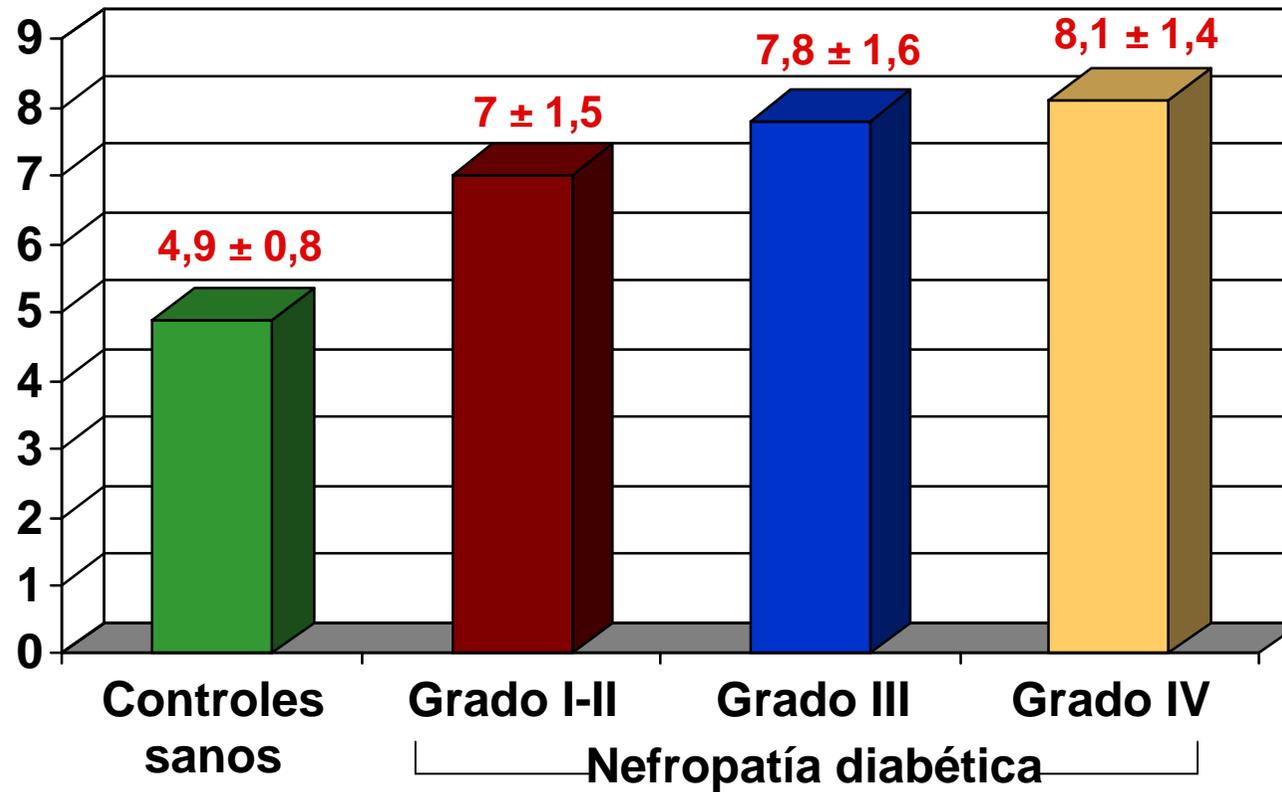


* NAG urinario (u/gr creatinina)

Figura 10

Nefropatía diabética

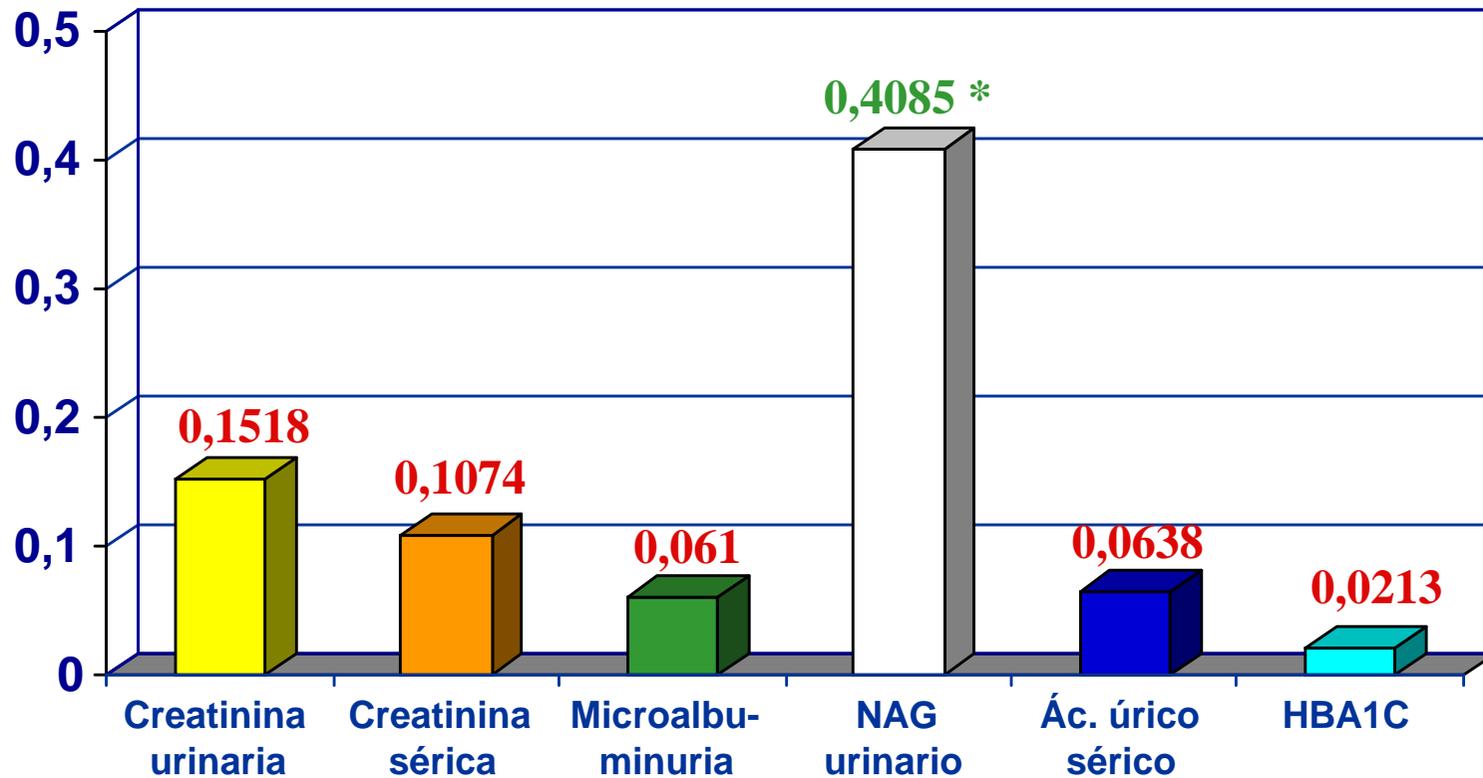
Hemoglobina glicosada* en los grupos estudiados



* Hemoglobina glicosada en %

Figura 11

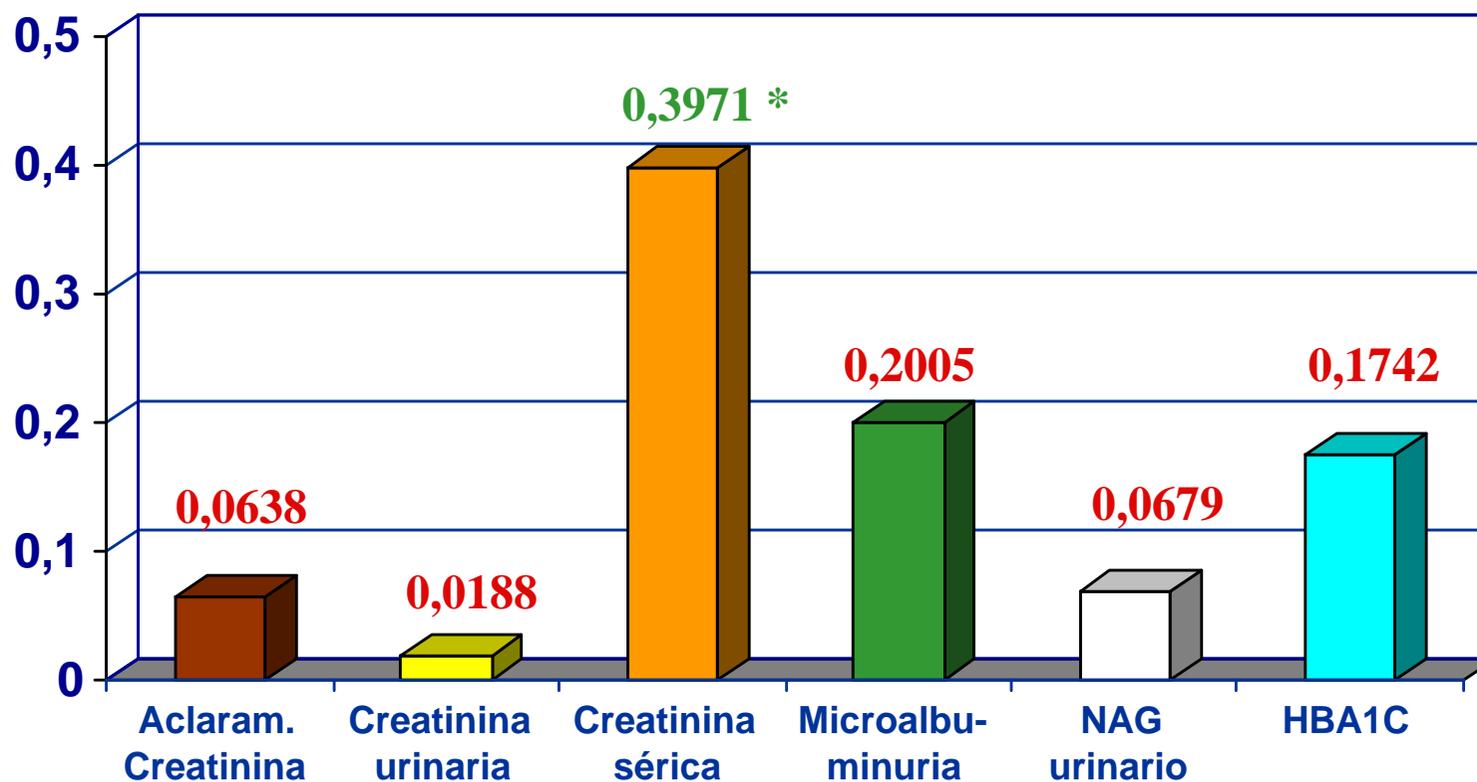
Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos



* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

Figura 12

Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos



* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

Figura 13

Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos

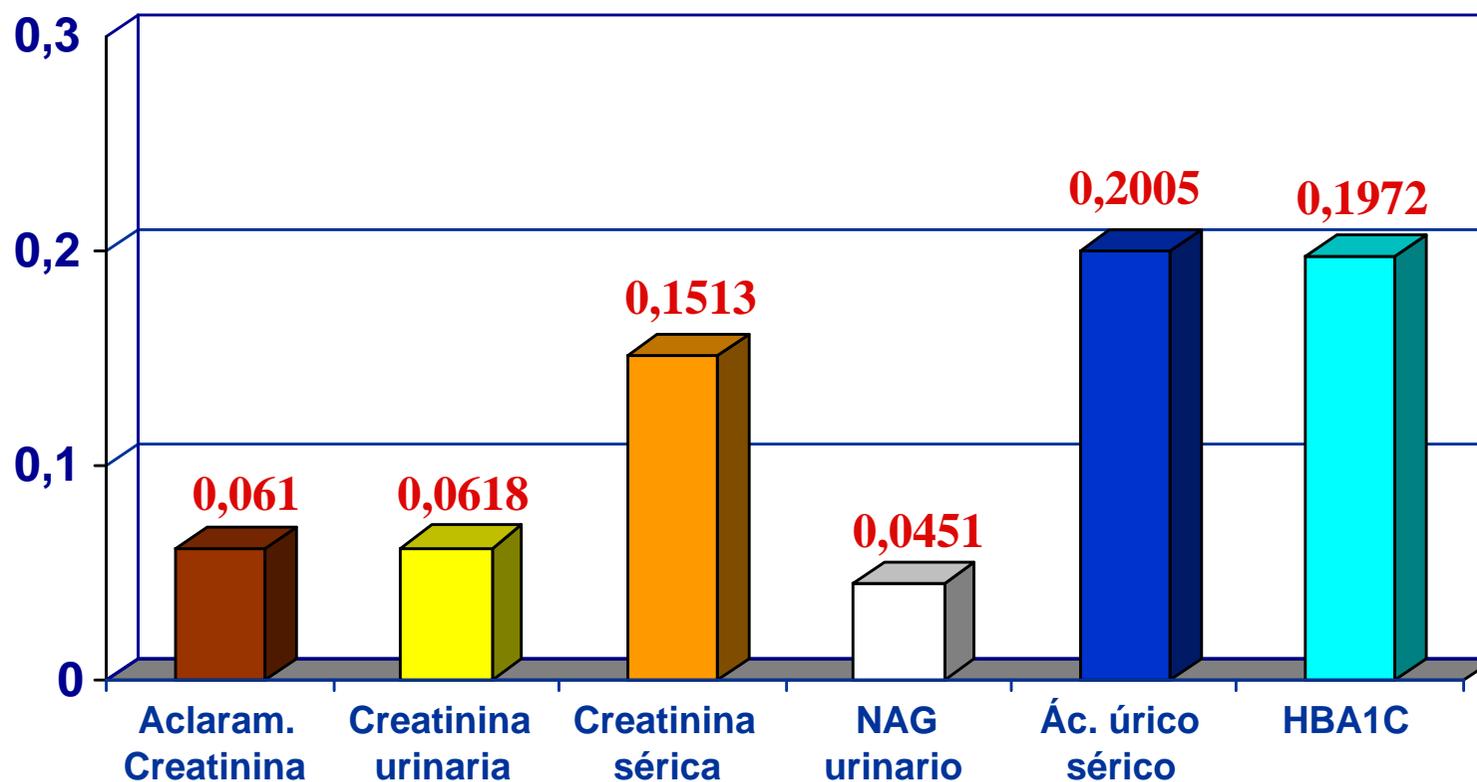
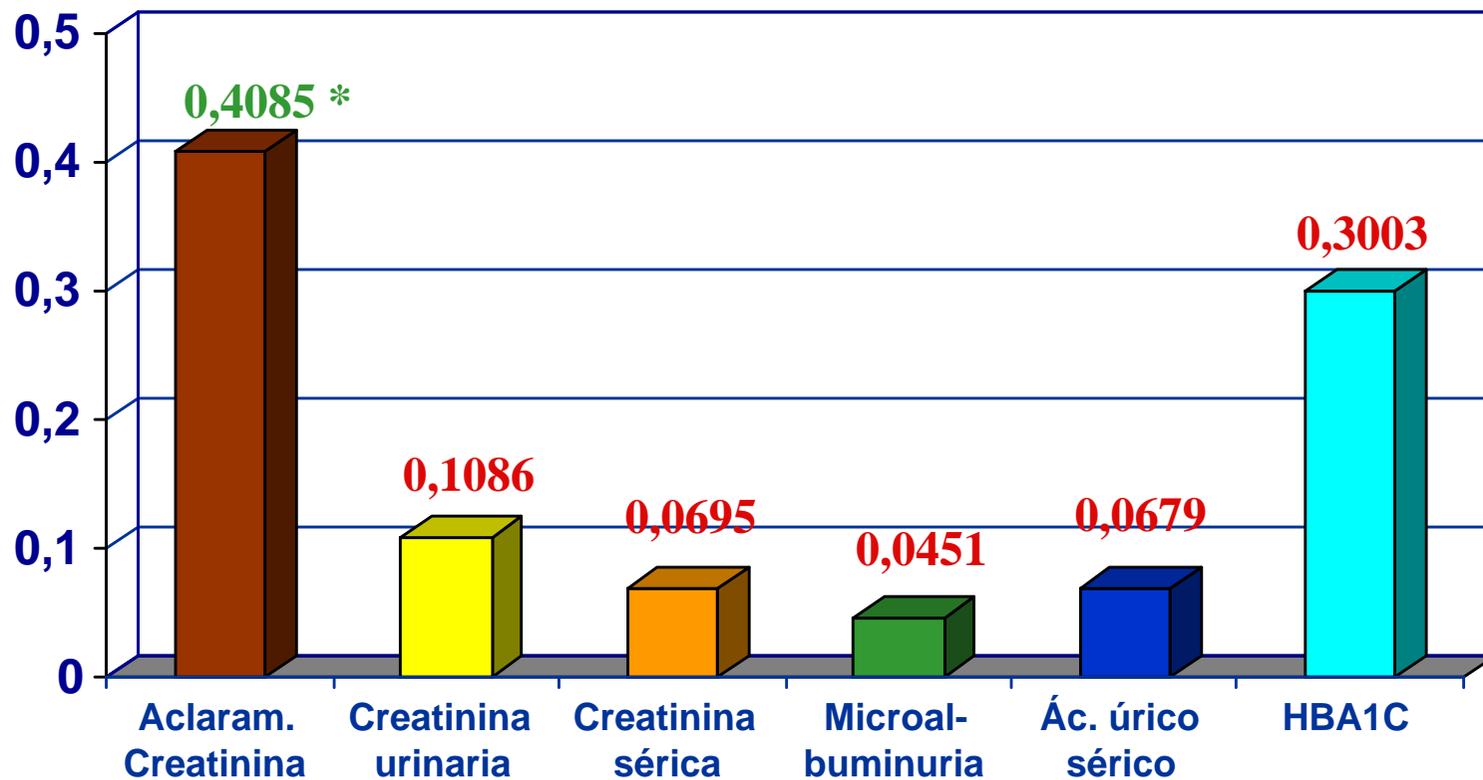


Figura 14

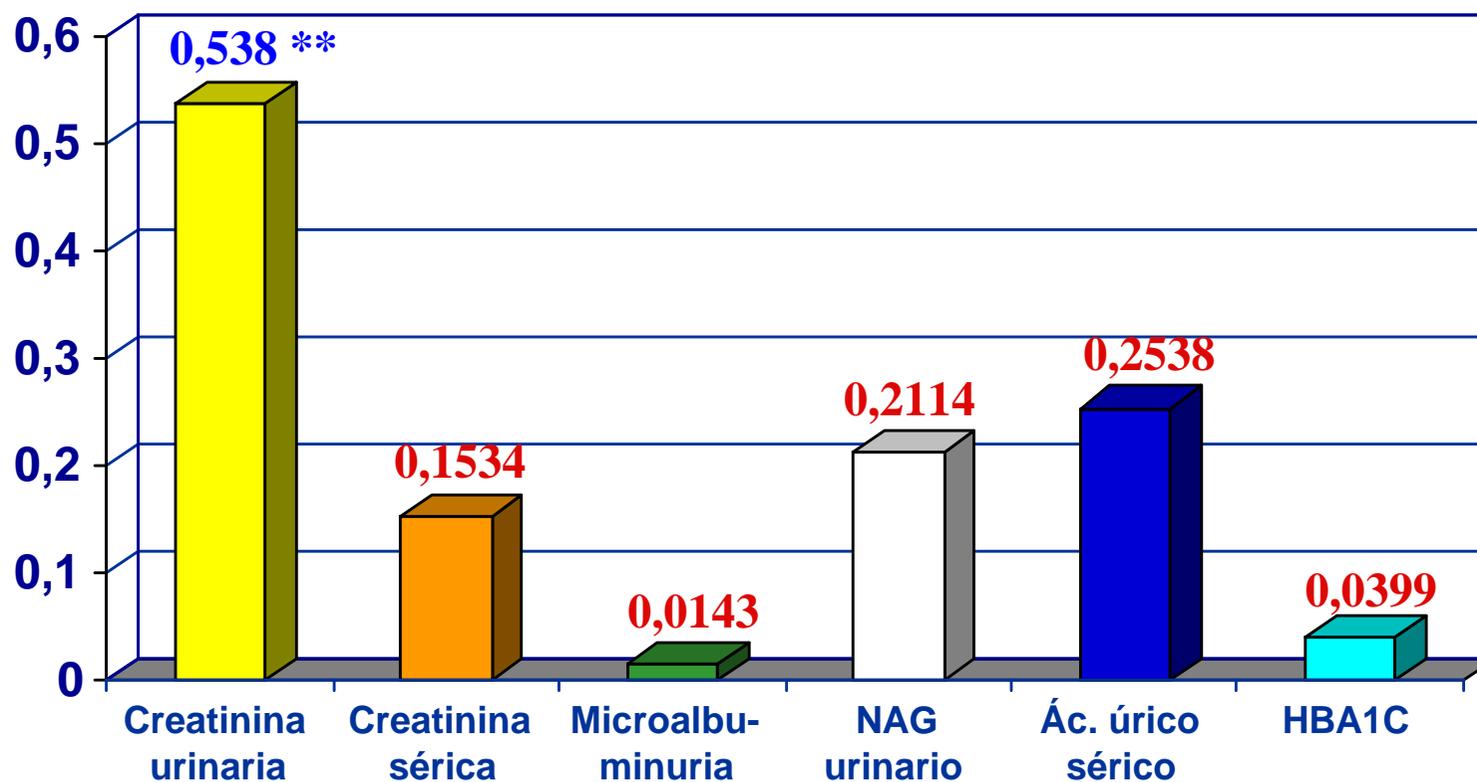
Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos



* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

Figura 15

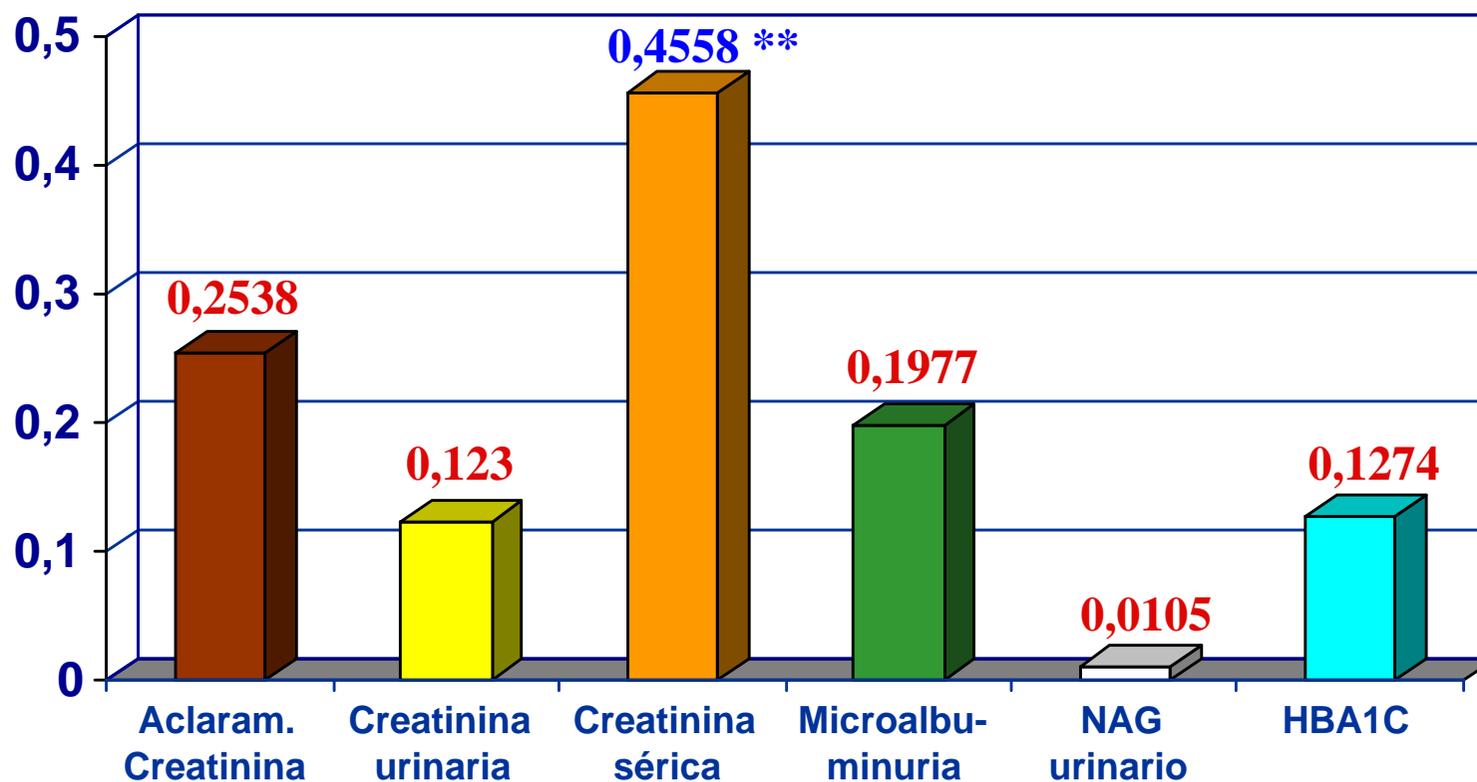
Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II



** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 16

Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II



** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 17

Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II

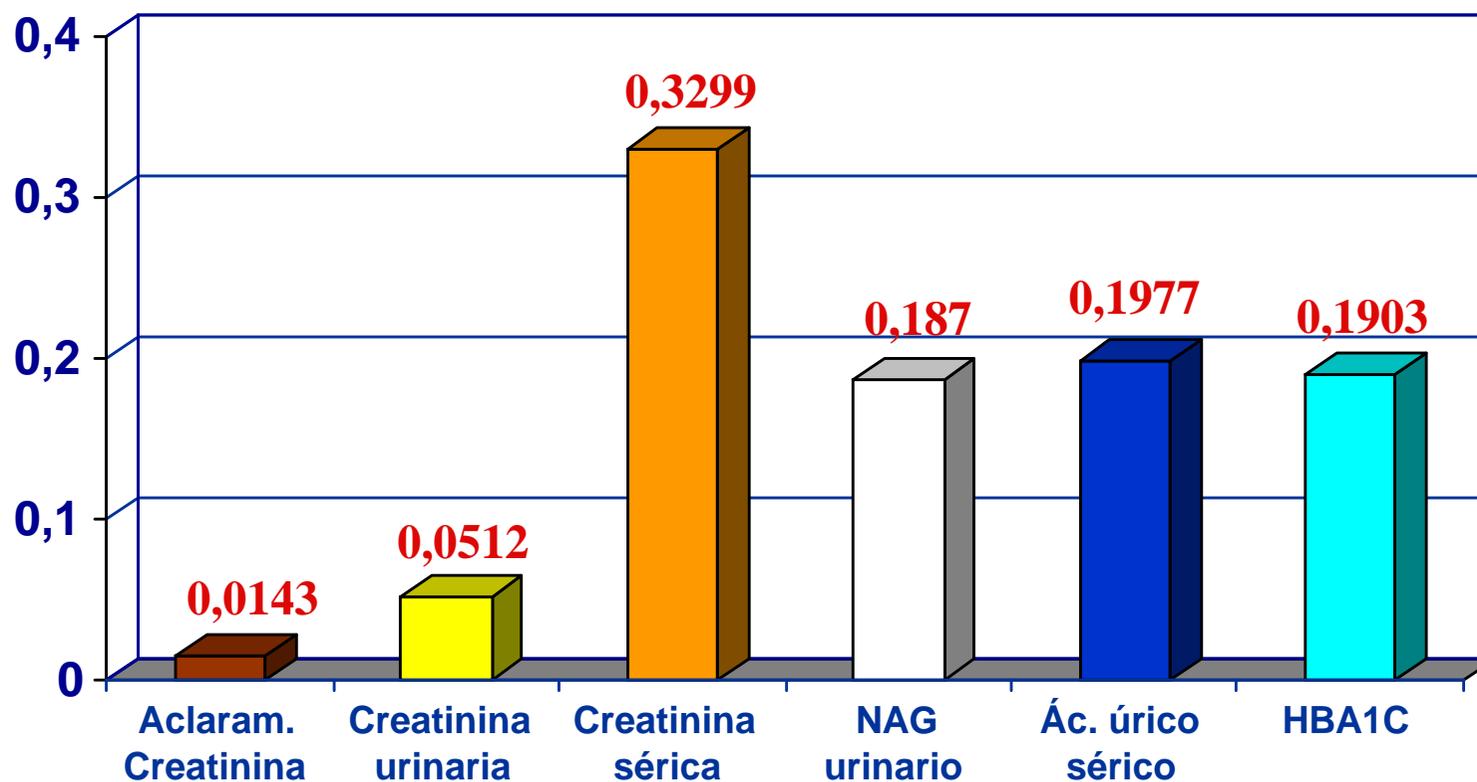
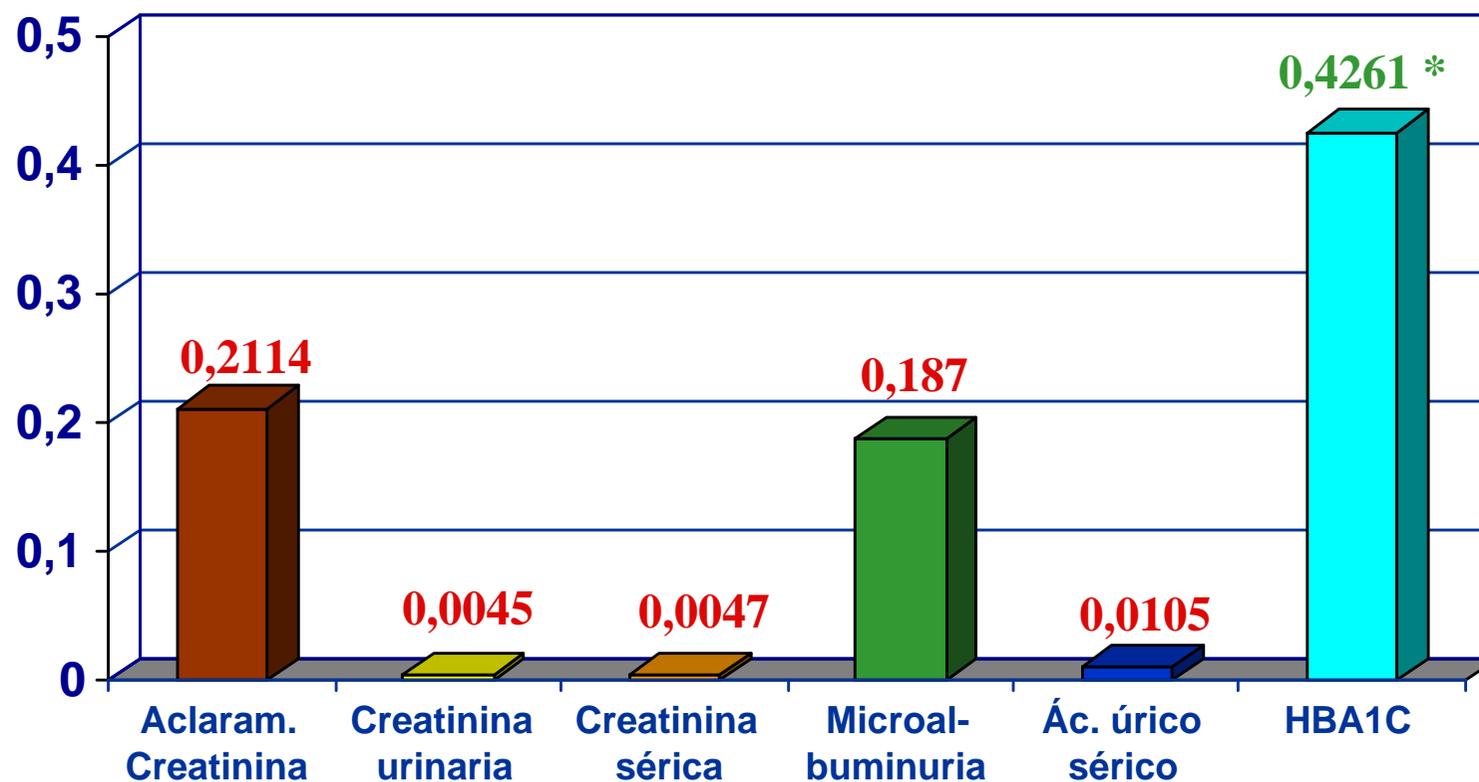


Figura 18

Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II



* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

Figura 19

Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III

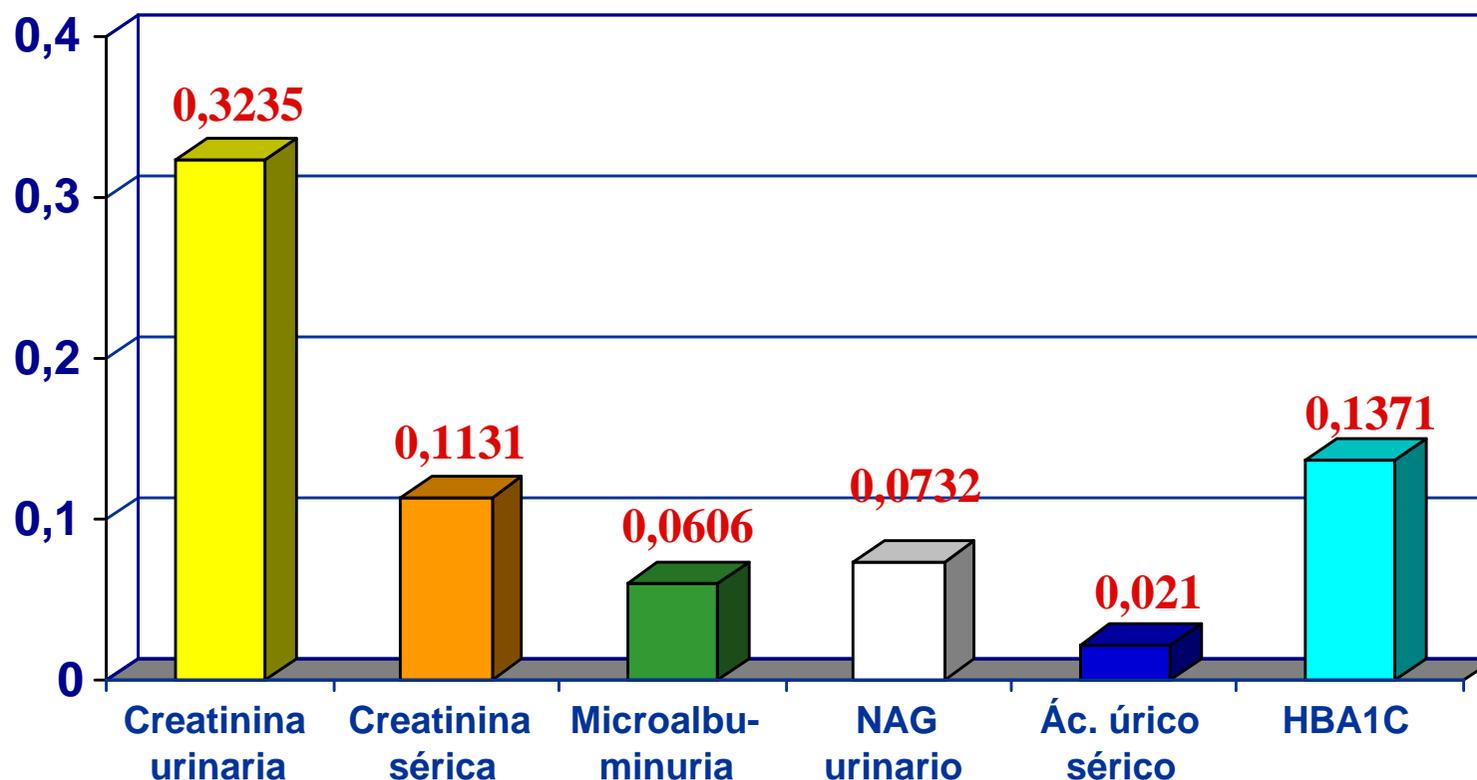
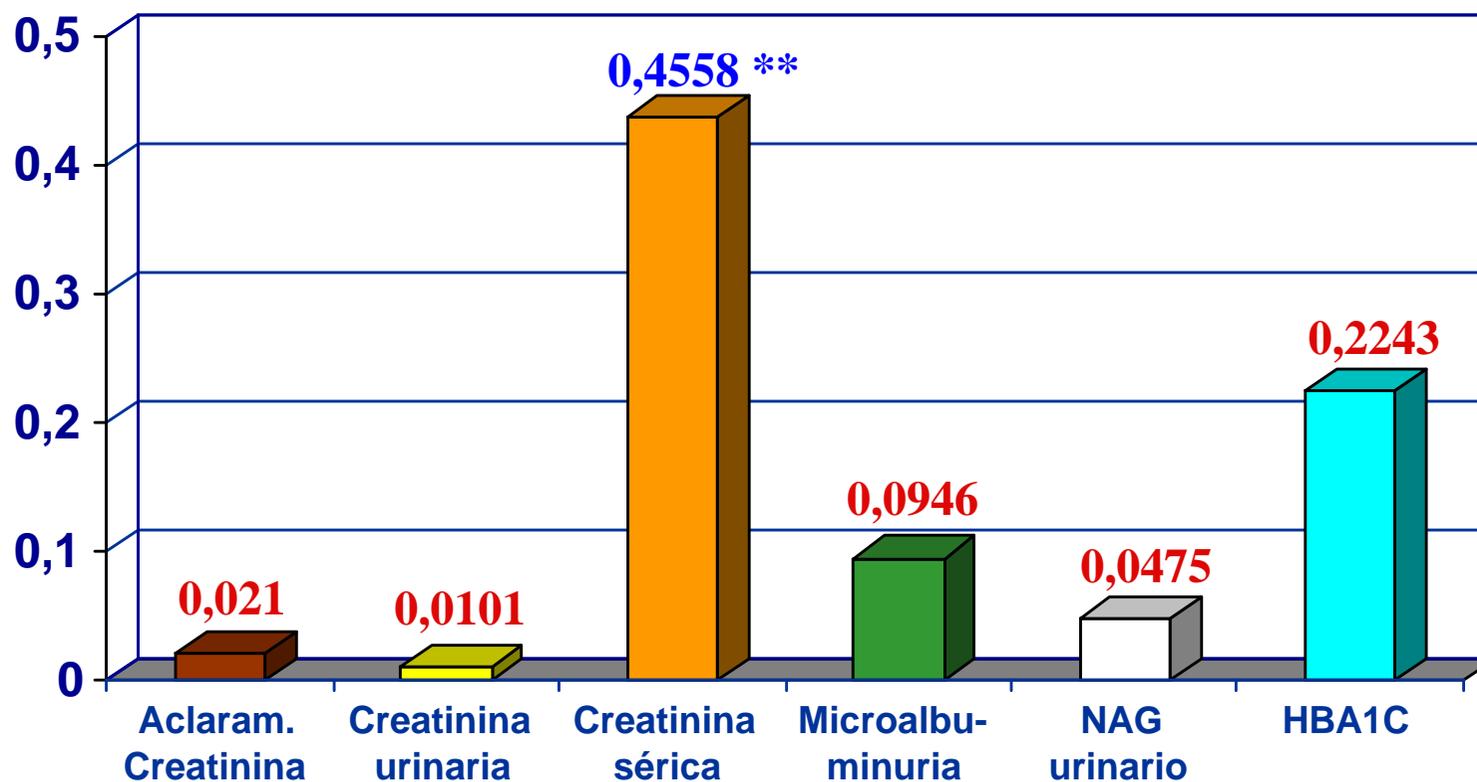


Figura 20

Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III



** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 21

Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III

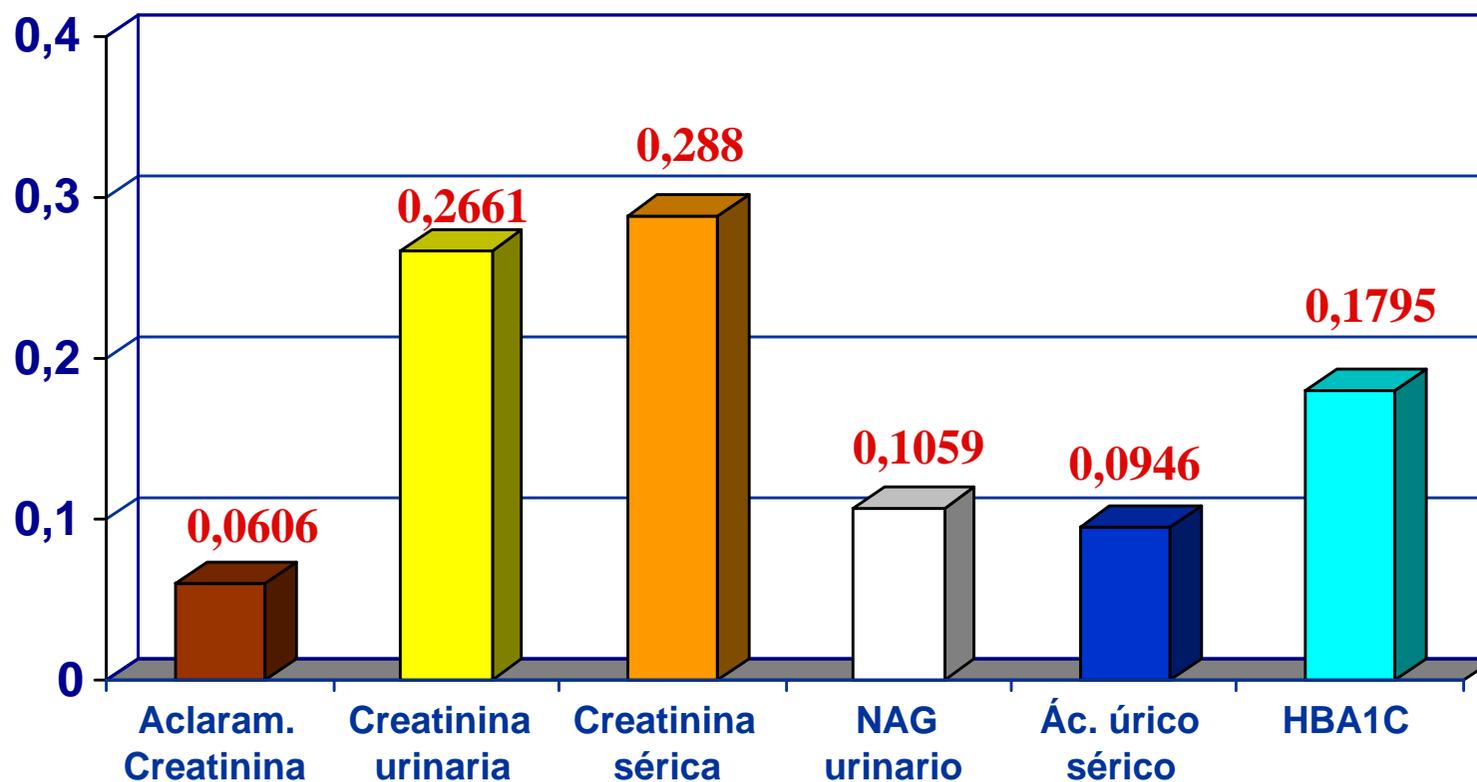
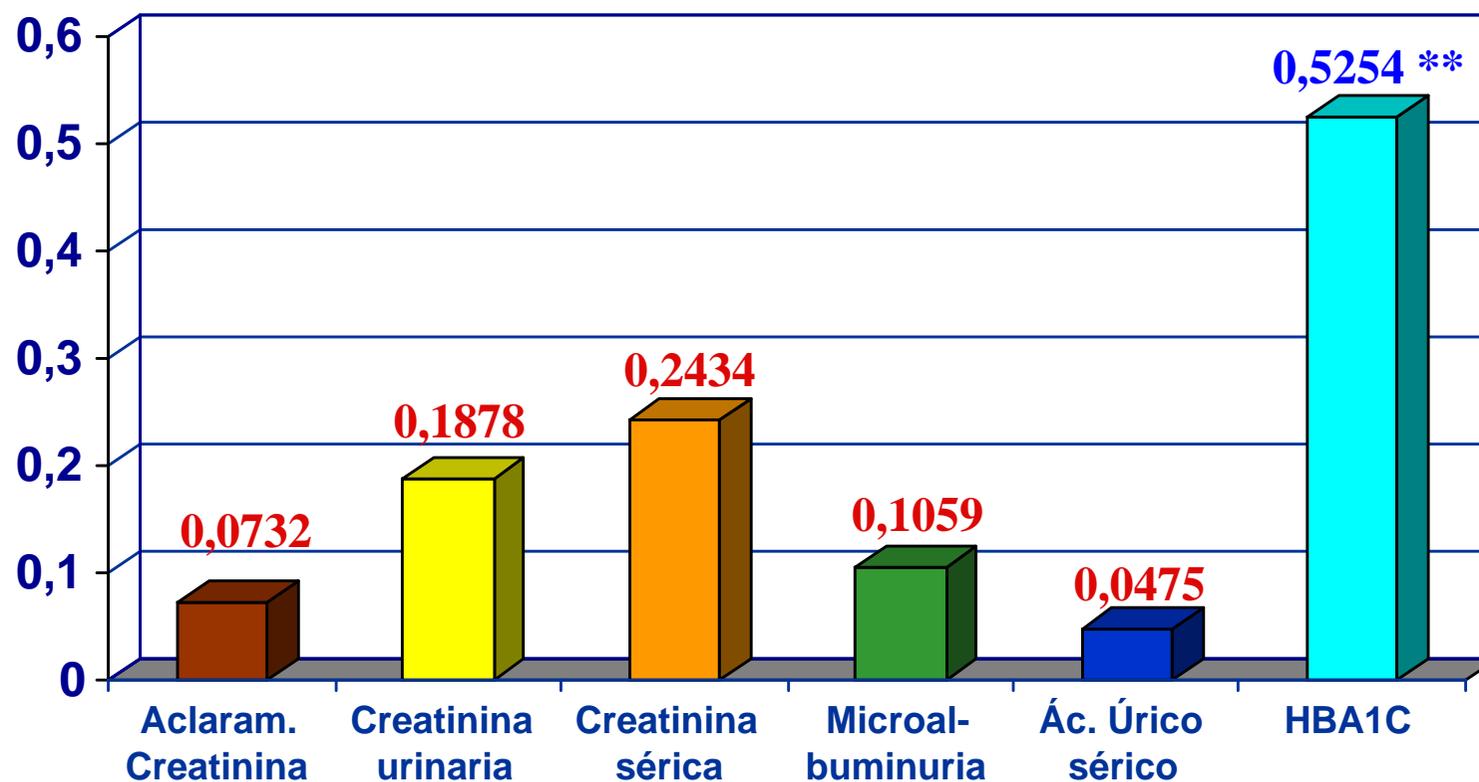


Figura 22

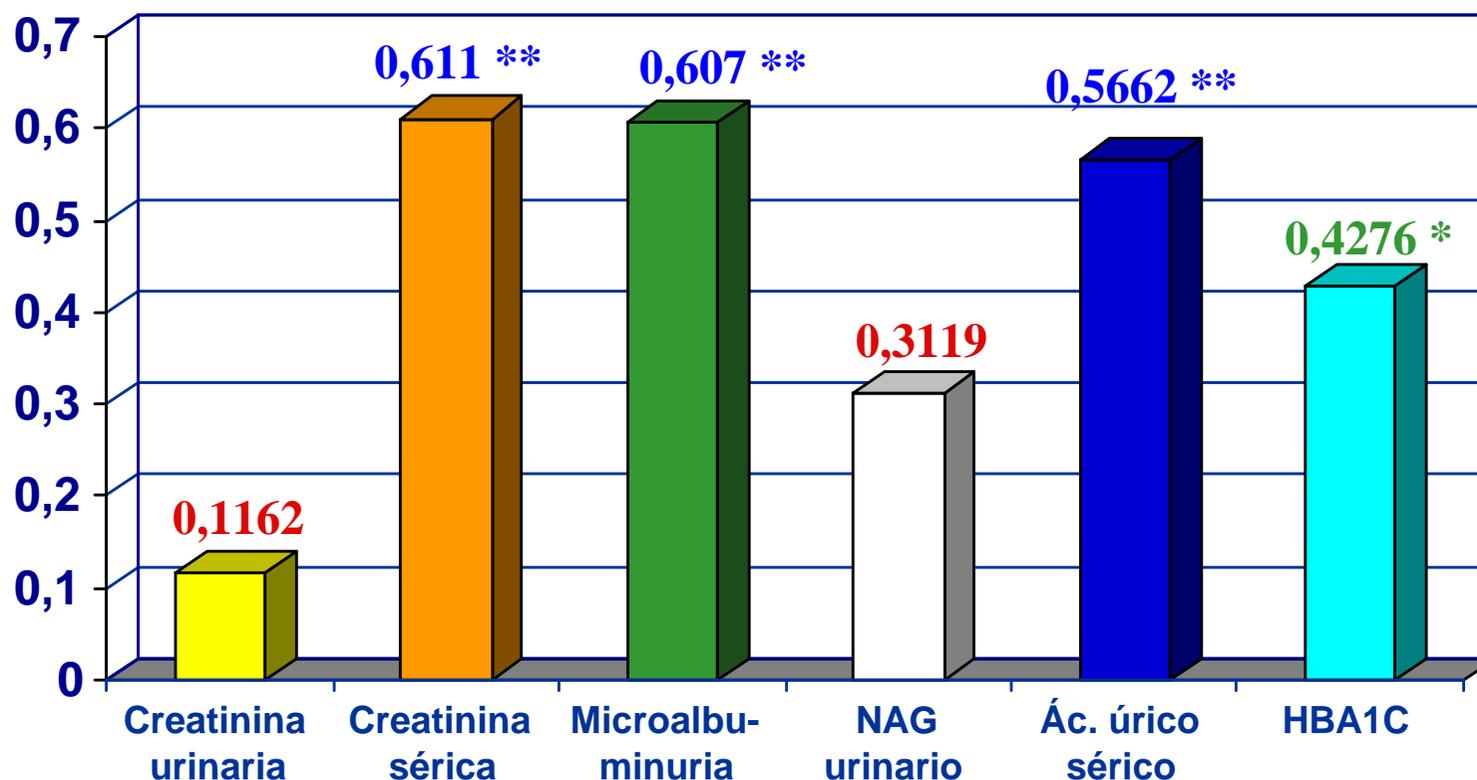
Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III



** Coeficiente de correlación significativo $< 0,01$

Figura 23

Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV

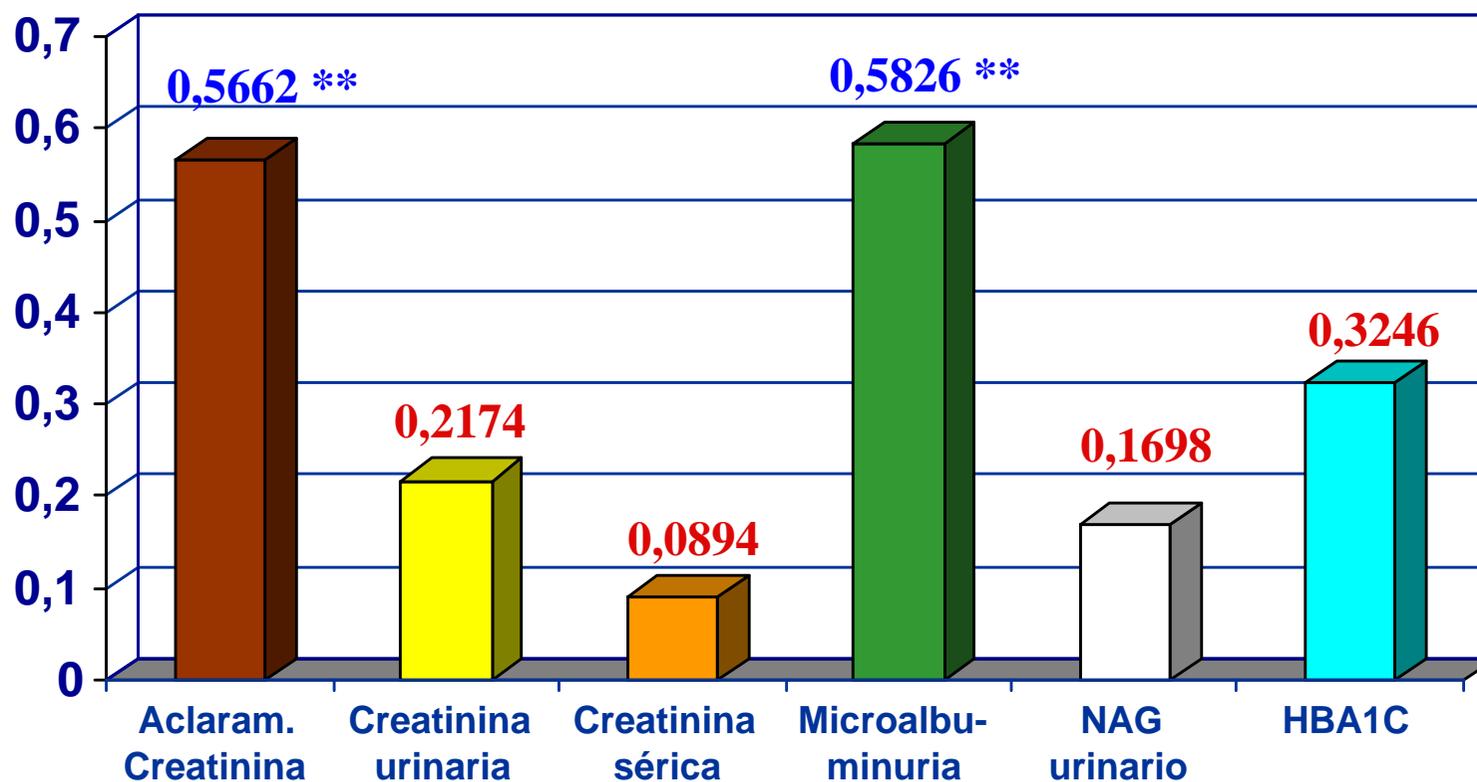


* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 24

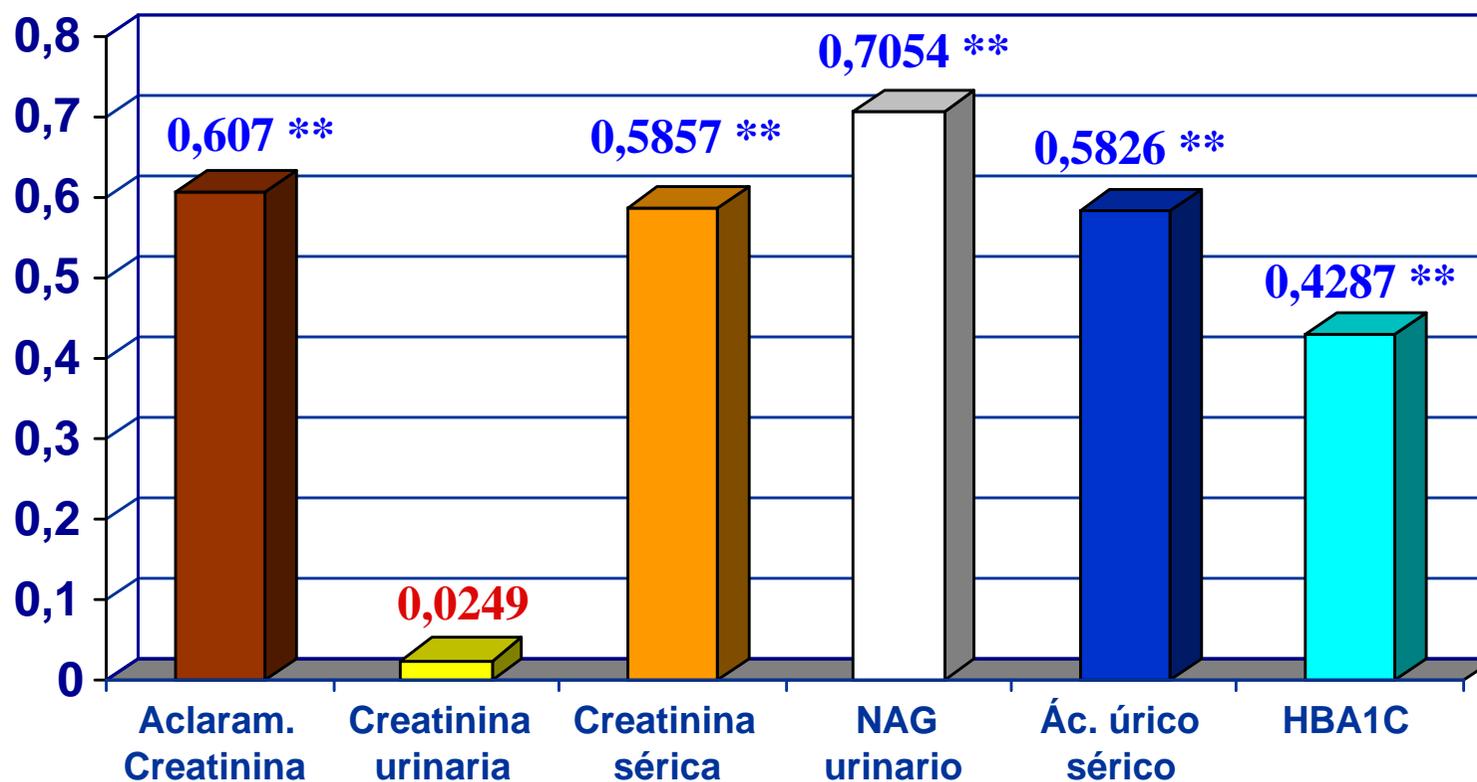
Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV



** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 25

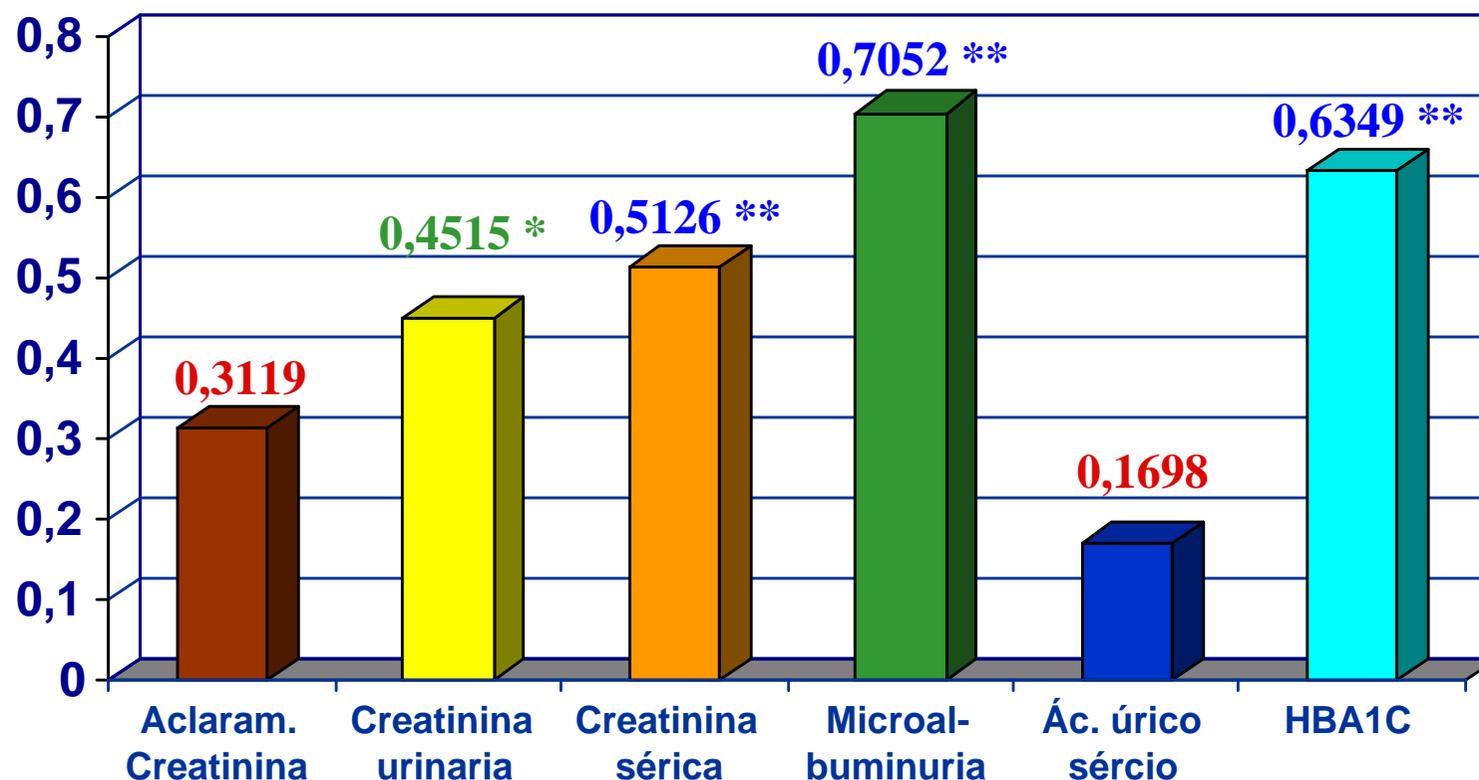
Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV



** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

Figura 26

Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV



* Coeficiente de correlación significativo < 0,05

** Coeficiente de correlación significativo < 0,01

DISCUSIÓN

Una de las complicaciones a tener en cuenta en la diabetes, tanto por su frecuencia como por sus consecuencias clínicas, es la nefropatía. Su patogenia es plurifactorial al igual que ocurre con el resto de las complicaciones. La mayor predisposición a padecer microangiopatía está en relación con la duración de la enfermedad. También se ha relacionado con el mal control metabólico, con anomalías de la microcirculación o la hemostasia y con la susceptibilidad genética.^{1, 2, 3, 4}

En los estadios iniciales de la enfermedad renal, se detectan alteraciones funcionales y estructurales sin repercusión clínica. Posteriormente hay un periodo de transición en el que se desarrollan lesiones glomerulares pudiendo aparecer microalbuminuria de forma ocasional que después conforme avanza el cuadro se hace permanente y se acompaña de hipertensión arterial. En la fase más tardía de la nefropatía se produce una oclusión glomerular y aparece proteinuria persistente con hipertensión grave que conduce a la insuficiencia renal crónica terminal.⁵

Se ha demostrado que conforme avanza el proceso microangiopático en la diabetes, ocurre un hecho fundamental a nivel vascular que es el aumento de la permeabilidad, inducido por el incremento de los productos terminales de la glicosilación avanzada, sobre todo del 2-furoil 4 (5)-(2) furanil 1-nimidazol durante un proceso complejo que conduce finalmente a la citotoxicidad de algunos tipos celulares concretos.⁶ La glucación no enzimática de las proteínas plasmáticas constituye una fuente de estimulación celular que induce a los macrófagos a segregar citocinas con interleucina 1, factor de necrosis tumoral y factor de crecimiento insulinoide tipo 1. Por otro lado se han encontrado receptores para proteínas modificadas por los productos finales de la glucación avanzada (PFGA) en macrófagos y se piensan que estos receptores participan en el aclaramiento de las proteínas glicadas. La presencia de receptores en linfocitos T sugiere que estas células podrían servir de intermediarios en una respuesta inmune iniciada por la acumulación de los productos finales de la glucación avanzada.

La permeabilidad vascular no depende únicamente de la integridad celular, sino también de las barreras con carga iónica. La membrana basal contiene moléculas de proteínoglicanos que están constituidas por cargas negativas.⁷ Los proteínoglicanos aniónicos disminuyen considerablemente en la diabetes,⁸ lo que permite la salida de proteínas con carga negativa como la albúmina, hacia el espacio extravascular atravesando la membrana basal. Así sucede en la orina donde se observa la

correspondiente albuminuria.⁹ La glicosilación no enzimática reduce la unión de los proteoglicanos aniónicos a las proteínas en el colágeno y la membrana basal.

Tanto la hiperglucemia como la hipertensión arterial pueden modificar de forma significativa la función renal. El adecuado control glucémico con terapia insulínica, retarda de forma eficaz la aparición y enlentece la progresión de la nefropatía.

La hiperglucemia crónica induce la glucación no enzimática, por un lado de proteínas plasmáticas que tienden a depositarse en la membrana basal del glomérulo, y por otro, de proteínas tisulares entre las que se encuentran las propias de la membrana basal glomerular y tubular. Conforme se deteriora la función renal aumenta la acumulación de los productos finales de la glucación avanzada y por tanto se forma un círculo vicioso.

Se proponen diferentes mecanismos patogénicos del efecto de las proteínas glicadas sobre la función renal. Como hemos señalado antes se han descrito receptores de PFGA en las células mesangiales y se sabe que la acumulación de estos productos en el glomérulo puede estimular el crecimiento mesangial. Además conocemos la existencia de citotoxicidad de los PFGA sobre las células epiteliales y mesangiales en el glomérulo, hecho que favorece el desarrollo de esclerosis. El colágeno tipo IV, constituyente proteico de las membranas basales, también sufre glicación no enzimática, lo que origina alteraciones estructurales y funcionales de las mismas.

La capacidad de los PFGA para estimular la síntesis de colágeno tipo IV a nivel renal es otro hecho que se ha evidenciado.

La acumulación de proteínas plasmáticas atrapadas contribuye, con el paso de los años, al engrosamiento de la membrana basal glomerular y a la oclusión progresiva de la microcirculación.^{10, 11}

La unión de la IgG y de la albúmina a la membrana es característico de la membrana extravascular diabética y su presencia contribuye al daño tisular añadido por mecanismos inmunológicos.¹²

A medida que envejecen el colágeno y la membrana basal, son degradados y sustituidos a una velocidad constante y gradual. Este proceso de recambio, depende de la función de los macrófagos y su eficacia determina la velocidad a la que se

desarrolla el daño celular.¹³ Todas estas alteraciones se producen a lo largo del tiempo, en los pacientes diabéticos y son factores que condicionan el desarrollo de la microangiopatía.

La estructura que hay entre el capilar glomerular y el espacio urinario de la cápsula de Bowman se comporta como una barrera mecánica y eléctrica. Esta barrera tiene unos poros de unos 55 Å y está cargada negativamente. La carga negativa se mantiene gracias a los glucosaminoglicanos. Por ello las proteínas cargadas negativamente (como la albúmina) o de mayor tamaño al citado, no podrán pasar esta barrera fisiológica. El otro factor que también influye es la presión en el capilar glomerular, de forma que, si está elevada facilita el paso de sustancias al espacio urinario.

En la nefropatía diabética, parece que el primer cambio sería un aumento de la presión glomerular seguidos de una pérdida de las cargas negativas de la membrana basal, por pérdida de polianiones glomerulares o por aumento de los cationes. En estos dos mecanismos intervienen de forma activa los enzimas lisosómicos N-acetil-β-glucosaminidasa y β-glucuronidasa, encargados de la degradación de las macromoléculas componentes de la membrana basal glomerular como son los glucoconjugados y los glucosaminoglicanos.

Estas alteraciones son las que permiten la aparición de la microalbuminuria. En fases posteriores de la enfermedad renal, se produce un aumento del tamaño de los poros, que junto a los cambios de la membrana antes citados, desencadena la aparición de albuminuria no selectiva.

Los cambios estructurales y funcionales acaecidos en el riñón en el transcurso de la nefropatía diabética, van a dar origen a una serie de alteraciones analíticas, tanto séricas como urinarias, que nos van a indicar el grado de afectación renal que existe en cada momento.

Lo ideal sería encontrar lo más precozmente posible una prueba bioquímica que nos haga sospechar la existencia de nefropatía, mucho antes de que empiecen las manifestaciones clínicas de la enfermedad, ya que al ser un proceso irreversible el conocimiento y la puesta en marcha de algunas medidas terapéuticas retrasaría la rápida evolución del cuadro.

Las alteraciones analíticas que reflejan el grado de afectación renal las denominamos “marcadores de daño renal”. Son múltiples los que se utilizan, desde parámetros bioquímicos (hiperuricemia, aclaramiento de creatinina) a marcadores de disfunción endotelial (factores de crecimiento celulares y endoteliales), aunque los más frecuentes en clínica por su fácil realización y su fiabilidad, son los que estudian la excreción anormal de proteínas por la orina.¹⁴

La microalbuminuria es actualmente uno de los marcadores de lesión renal más sensibles y específicos. Para medir la capacidad de reabsorción tubular se utilizan proteínas de bajo peso molecular, como la β -2 microglobulina o los enzimas de secreción tubular como la alanino-aminopeptidasa o el N-acetil- β -glucosaminidasa.

El ácido úrico sérico es un marcador que indica afectación renal, cuando la nefropatía presenta signos clínicos ya evidentes como la hipertensión arterial.¹⁵ Hay mayor prevalencia de hiperuricemia en los pacientes diabéticos tipo 2,¹⁶ y se ha relacionado con la obesidad, hipercolesterolemia y resistencia a la insulina.¹⁷

Desde los trabajos de Parving¹⁸ y Viberti¹⁹ se conoce la importancia de la detección de microalbuminuria, para etiquetar el grado de nefropatía diabética. Hoy es un parámetro bioquímico mundialmente aceptado.

La presencia de microalbuminuria aumenta veinte veces el riesgo de insuficiencia renal crónica terminal.²⁰

De los enzimas urinarios que pueden tener valor pronóstico en la nefropatía diabética se encuentran el N-acetil- β -glucosaminidasa²¹ y la β -glucuronidasa.²² Estos dos enzimas están implicados en el desarrollo de la microangiopatía diabética, al intervenir, como hemos señalado anteriormente, en la degradación de los glucoconjugados (glucosaminoglicanos) de la membrana basal glomerular.²³

Como ha demostrado Vidal y cols.,²⁴ el primer mecanismo que se altera en la nefropatía diabética, es la selectividad de carga de la membrana basal, mucho antes que el aumento de la presión intraglomerular,²⁵ y del aumento del tamaño del poro.²⁶ La pérdida neta de cargas negativas a nivel de la membrana basal, que al parecer viene predeterminada de forma genética,²⁷ se debe a un defecto parcial en la sulfatación de proteinoglicanos, aunque también puede intervenir el aumento de la glicación proteica del colágeno de la membrana.

El metabolismo de los proteínoglicanos es complicado, interviniendo un complejo sistema enzimático, aunque los pasos claves en la degradación son la hidrólisis del núcleo proteico y la división del polisacárido por endoglicosidasas: β -glucuronidasa, N-acetil- β glucosamidasa y hialuronoglucosaminidasa.

Los fragmentos formados difunden hacia la matriz y son excretados casi sin unir por la orina, o bien son fagocitados por células, rompiéndose en este caso en el interior de las vesículas lisosomiales. Por este motivo hemos encontrado aumento de la excreción urinaria de glucosaminoglicanos en la fases iniciales de la enfermedad renal en el paciente diabético,²⁸ que se acompaña de un incremento de la actividad urinaria de los enzimas lisosómicos encargados de su degradación como son el N-acetil- β -glucosaminidasa²⁹ y la β -glucuronidasa.³⁰

Waters³¹ estudia siete enzimas que dice son máximos responsables del metabolismo glucoconjugado y que juegan un papel importante en la patogenia de la macro y microangiopatía diabética. Entre estos enzimas se encuentra el NAG y la β -glucuronidasa. En relación con el primero existe algún otro trabajo, en el que se determina su actividad plasmática, en la diabetes mellitus tipo 1, observándose elevaciones en pacientes con complicaciones.³² Algunos autores auguran, que el NAG está implicado en el desarrollo de la microangiopatía de algunos diabéticos, favoreciendo el depósito de mucopolisacaridos en los pequeños vasos.

En relación con las determinaciones del NAG urinario, los estudios son más escasos. Se ha comprobado que su excreción desciende ligeramente durante el día y que puede modificarse por ciertos fármacos.³³ Hay aumento de la excreción urinaria de NAG en los pacientes diabéticos, en relación con su grado de nefropatía, sin que exista correlación con otros enzimas, salvo con la β -glucuronidasa.

De acuerdo con los trabajos existentes podemos resumir, que el incremento de la actividad urinaria del NAG en la diabetes, podría estar en relación con el grado de nefropatía diabética.^{34,35}

Hace más de una década Jung³⁶ ya advirtió de la importancia de la determinación urinaria de NAG en el diagnóstico precoz de la enfermedad renal en los pacientes diabéticos. Cuando existe albuminuria franca, la actividad del NAG esta muy elevada.^{37,38} La correlación entre la microalbuminuria y la actividad del NAG ha sido

evidenciada en pacientes diabéticos con hipertensión arterial.^{39,40} Al intervenir el NAG en la degradación de glucoconjugados de la MBG, la hiperactividad de este enzima en las fases precoces de la nefropatía, podría deberse a un aumento de su producción a nivel glomerular.^{41,42} Al mejorar la función glomerular por acción de determinados fármacos, como el grupo de los inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina, disminuye la excreción urinaria de NAG, además de descender la eliminación de microalbuminuria.^{43,44}

Son escasos los trabajos que estudian la actividad urinaria de la β -glucuronidasa en la diabetes mellitus. El estudio inicial de Maruhn⁴⁵ relaciona el aumento de este enzima con la aparición de complicaciones de la diabetes. Cuando hay hipertensión arterial, hecho que demuestra la existencia de una nefropatía establecida, es cuando encuentra elevados los niveles urinarios de β -glucuronidasa.

En relación con el tiempo de evolución de la diabetes, se ha visto que los 10-15 años después del inicio de la enfermedad, es cuando empiezan a aparecer signos de afectación renal. Rao⁴⁶ ha encontrado niveles elevados de β -glucuronidasa en esas fechas y siempre había otros parámetros de función renal alterados.

También se ha querido relacionar la actividad urinaria de la β -glucuronidasa con el mal control de la diabetes. Cuando existen alteraciones metabólicas graves, esta hiperactividad es muy manifiesta⁴⁷ e incluso en situaciones clínicamente estables, pero con hemoglobina glicosilada algo elevada.⁴⁸

En la nefropatía diabética se ha demostrado un descenso de la concentración glomerular de glucosaminoglicanos, con aumento de su excreción urinaria en relación con la hiperactividad de los enzimas encargados de su degradación, que son los dos que anteriormente hemos señalado.

En el presente trabajo queremos poner de manifiesto que el grado de control de la diabetes influye directamente en las repercusiones orgánicas de ésta y especialmente en la nefropatía.

Nuestro estudio lo constituye un amplio grupo de pacientes diabéticos, 144 en total, que hemos distribuido según el grado de nefropatía (Estadio I-II 76 pacientes, Estadio III 47 pacientes y Estadio IV 21 pacientes) y un grupo de 94 sujetos sanos tomados como control.

En cada uno de estos, hemos estudiado una serie de parámetros bioquímicos clásicos de función renal, cuyos resultados vamos a comentar.

La **creatinina sérica** va aumentando conforme avanza el grado de nefropatía, pero solo existen diferencias significativas respecto a los controles sanos en la nefropatía Grado IV (Figura 3). Esto nos indica por un lado la conservación de la función glomerular, en límites muy aceptables en los estadios I, II y III de la nefropatía diabética. Por otra parte en la nefropatía establecida con albuminuria evidente (Grado IV) se pone de manifiesto el deterioro de la función del glomerulo.

En relación a la **creatinina urinaria** comprobamos que tiene tendencia a descender a lo largo de la evolución de la nefropatía (Figura 4). Es un marcador grosero que nos indica el aumento de la presión en el capilar glomerular, con el incremento de la filtración glomerular que puede estar influenciado por la glucemia⁴⁹ o las hormonas relacionadas con su metabolismo (insulina, glucagón u hormona del crecimiento)⁵⁰ en las primeras fases de la nefropatía diabética.

El **aclaramiento de creatinina** es un parámetro más fidedigno de filtración glomerular. Sin embargo el descenso en el aclaramiento de creatinina no fue significativo en los pacientes diabéticos respecto a los controles sanos (Figura 5). Tampoco existieron diferencias entre los distintos grupos de nefropatía (Tablas XXXIII-XXXV).

La **urea sérica** se eleva en las fases finales de la nefropatía diabética, cuando la insuficiencia renal esta ya establecida (Figura 6) y las diferencias fueron significativas respecto al grupo control en el Grado IV. Este hecho nos pone en evidencia que la determinación de urea sérica no tiene valor en la determinación precoz de la nefropatía diabética y que solamente se altera cuando hay signos de insuficiencia renal.

Nos ha sorprendido el comportamiento del **ácido úrico sérico** en nuestro grupo de controles sanos, que está en unas cifras en el límite superior de la normalidad. Sin embargo en los pacientes diabéticos es más bajo, siempre dentro de los límites establecidos como normales y asciende en el Grado IV de la nefropatías (Figura 7). Tampoco existieron diferencias significativas entre los grupos de diabéticos y los controles sanos o entre los diferentes grupos de enfermos diabéticos (Tabla XXX a XXXV). Encontramos una correlación significativa entre el ácido úrico y el aclaramiento de creatinina en los controles sanos (Figura 12) y en los pacientes diabéticos en las

fases iniciales de la nefropatía (Figuras 16 y 20) y del ácido úrico con el aclaramiento de creatinina y microalbuminuria en la nefropatía Grado IV (Tabla XXXIX).

La elevación del ácido úrico, es considerada inicialmente como un marcador de daño epitelial⁵¹ y de hipoperfusión renal^{52,53} con especial repercusión sobre el túbulo, responsable inicial de la reducción en la excreción de ácido úrico y su consecuente incremento sanguíneo. Su valor en la diabetes radica más en sus cambios evolutivos, que podrían detectar una alteración de la función tubular por hipoperfusión.

Un dato esperado por nosotros, es el aumento progresivo de la **excreción urinaria de albúmina** en relación con el grado de afectación renal en el diabético.

En los controles sanos la media de excreción de albúmina estaba dentro de los límites de la normalidad. En la nefropatía diabética Grado I-II la excreción media de albúmina también se encontraba dentro de la normalidad, aunque existió un pequeño número de casos que su albuminuria estaba dentro del concepto que hemos establecido como microalbuminuria, es decir entre 30 y 300 mg/g de creatinina.

En el Grado III de la nefropatía diabética casi todos los enfermos presentaban microalbuminuria y coincide, como parámetro de inclusión de este Estadio de la clasificación de Mogensen.⁵⁴

En el Grado IV los pacientes presentaban en un porcentaje muy alto de ellos macroalbuminuria, es decir más de 300 mg/g de creatinina (Figura 8).

Al comparar el grupo control con el resto de los pacientes diabéticos, existieron diferencias significativas con el Grupo I-II de la nefropatía ($p < 0,002$), con el Grupo III ($< 0,0001$) y con el Grupo IV ($< 0,0001$) (Tablas XXX a XXXII).

Comparando grupo por grupo en los diabéticos se observó que existían diferencias significativas entre cada uno de ellos (Tablas XXXIII a XXXV).

Solamente encontramos correlación de la microalbuminuria con otros parámetros (aclaramiento de creatinina, creatinina sérica, ácido úrico sérico, NAG y hemoglobina glicosilada) en el grupo de pacientes con nefropatía Grado IV (Tabla XXXIX) y no así en el resto de los grupos del estudio (Tablas XXXVI a XXXVIII).

La ausencia de elevación importante de albúmina urinaria en el Grupo I-II, podría explicarse en primer lugar por la ausencia de lesión renal glomerular evidente en este estadio, y si la hubiere sería mínima y se compensaría a nivel tubular reabsorbiéndose el exceso de proteína filtrada.⁵⁵

Desde hace años se ha establecido que la microalbuminuria es la primera manifestación clínica de la nefropatía diabética, que inicialmente puede ser ocasional, pero que posteriormente se hace constante⁵⁶ y que tiene un importante valor pronóstico de la evolución de esta complicación de la diabetes.^{57,58} Como hemos señalado anteriormente la presencia de microalbuminuria es consecuencia de un aumento del tamaño de los poros de la membrana basal glomerular así como una desestructuración de la carga eléctrica a dicho nivel.

Cuando la proteinuria sigue aumentando y supera los 300 mg/ g de creatinina el deterioro de la función renal se hace evidente y ya están alterados otros parámetros como el aclaramiento de creatinina, ácido úrico o urea séricos.

Otro punto de interés es la influencia que tiene el control de la glucemia en la aparición de las complicaciones de la diabetes, entre ellas la nefropatía. Los estudios del grupo de trabajo DCCT indican la importancia de la relación —control metabólico— nefropatía diabética.^{59,60} En nuestros enfermos estudiamos el grado de control de la diabetes, mediante la determinación de la **hemoglobina glicosilada**. No encontramos diferencias significativas de ésta, entre los pacientes diabéticos en sus distintos estadios de la nefropatía (Tabla XXXIII a XXXV), pero sí con los controles sanos (Tablas XXX a XXXII). Pero cuando estudiamos la correlación de la hemoglobina glicosilada con los otros parámetros del estudio comprobamos dos hechos significativos:

En los controles sanos la hemoglobina glicosilada no se relaciona con ningún otro dato bioquímico (Tabla XXXVI).

En los pacientes diabéticos, aún en las fases iniciales de la nefropatía hay correlación entre ésta y el NAG urinario (Tablas XXXVII y XXXVIII) y en las fases finales con el aclaramiento de creatinina, microalbuminuria y NAG (Tabla XXXIX).

Quizás sea el dato más importante de este estudio esa correlación que hemos encontrado entre la hemoglobina glicosilada y el NAG urinario, es decir entre el grado

de control de la diabetes y un parámetro fino de lesión renal. Estos datos sugieren un protagonismo directo de los productos de glucación en la patogénesis de la nefropatía diabética.

Hoy día está perfectamente demostrado que desde el mismo inicio de la diabetes, una buena parte de los pacientes presentan evidentes alteraciones en la hemodinámica renal, caracterizados fundamentalmente por un aumento del filtrado glomerular^{61,62,63} y del flujo plasmático renal.^{64,65} Esta hiperfiltración glomerular está relacionada con el grado de control metabólico, se corrige al normalizar estrictamente la glucemia^{66,67,68} y generalmente se acompaña de hipertrofia renal.^{69,70}

Son muchos los factores que en mayor o menor grado se han sugerido que podían estar relacionados con estas alternativas hemodinámicas.

Durante años la eterna controversia en la diabetes mellitus consistió en determinar si la microangiopatía era una consecuencia del trastorno metabólico, o si se trataba de otra manifestación de esta enfermedad, de evolución inexorable e independiente del grado de control de la hiperglucemia. En la actualidad hay suficientes argumentos a favor de la primera posibilidad, como la recidiva de la lesión diabética en el riñón transplantado,^{71,72} los estudios con gemelos univitelinos de los cuales solo uno de ellos era diabético, y la relación observada entre la nefropatía y la duración o grado de control de la diabetes.^{73,74,75}

Se considera que la hiperglucemia es un factor de riesgo para la nefropatía diabética,⁷⁶ y en los pacientes con nefropatía abierta, el nivel medio de hemoglobina glicosilada se pone en correlación con la pérdida de función renal.⁷⁷

Algunos autores como Krolewski⁷⁸ defienden como cifras críticas valores de HbA1c superiores al 8.1%.

El aumento de la glucemia plasmática, de niveles normales hasta 12-13 nmol/l, incrementa en un 5-13% el filtrado glomerular y este fenómeno es más acusado en pacientes con hiperfiltración basal.^{79,80} Por otro lado, la reducción de la glucemia mediante la infusión de insulina reduce el flujo glomerular.^{81,82,83}

El mecanismo por el que la hiperglucemia podría afectar el flujo renal es desconocido. Se ha sugerido que podría ser modulando la síntesis renal de prostaglandinas,

umentando la reabsorción de sodio yagua a nivel del túbulo distal o provocando alteraciones en el "Feed-back" túbulo-glomerular.^{84,85,86}

Otra posible causa podría ser mediante un incremento en la producción de cuerpos cetónicos, ya que recientemente se ha descrito que la infusión de estos comporta una elevación del filtrado glomerular.⁸³

Son mecanismos potencialmente lesivos de la hiperglucemia además de la acción tóxica de la glucosa sobre el glomérulo, alterando la replicación celular y aumentando el crecimiento renal.⁸⁷ La activación de la proteína-kinasa C aumenta la permeabilidad capilar y la síntesis de la matriz mesangial.⁸⁸ El aumento en la producción de citoquinas y TGF-beta provoca hipertrofia mesangial y la glicación no enzimática de proteínas ocasiona engrosamiento y alteración de la membrana basal, entrecruzamiento de las moléculas de colágeno y expansión mesangial.⁸⁹

El The United Kingdom Prospective Diabetes Study⁹⁰ mostró que el control intensivo de la glucosa en sangre con sulfonilureas o insulina reduce el riesgo de nefropatía diabética y otras complicaciones microvasculares, aunque no las complicaciones macrovasculares, en los pacientes con diabetes tipo 2. En un estudio aleatorizado dirigido en Japón, el control intensivo de diabetes tipo 2 con tres o más inyecciones de insulina por día, produjo una disminución en la proporción de nefropatía nueva o progresiva, después de un periodo de seis años, en comparación con la terapia convencional con una o dos inyecciones por día (7.7 por ciento vs. 28 por ciento).⁹¹

En el subgrupo de participantes en el The United Kingdom Prospective Diabetes Study que tenían sobrepeso (definido como >120% del peso ideal),⁹² el efecto de la biguanida metformina producía una reducción del riesgo de fracaso renal similar al de otros agentes hipoglucemiantes, pero la metformina producía un significativamente más bajo riesgo de infarto del miocardio que los otros agentes.

El estudio prospectivo, randomizado y controlado "The Diabetes Control and Complication Trial"⁷⁶ demostró que el control estricto de la glucemia en pacientes con diabetes tipo 1 mediante bomba de infusión continua o frecuentes administraciones, conseguía reducir el riesgo de proteinuria en un 50% en comparación con el control glucémico convencional mediante la administración de insulina de acción retardada y control de las cifras de HbA1c. Anteriormente se habían comunicado con este tratamiento, además de disminución de la microalbuminuria,⁹³ reducción de la

hiperfiltración glomerular^{93,94} y la nefromegalia.⁹⁵ Los datos obtenidos en diabetes tipo 2 también confirman la reducción de la proteinuria asociada al control glucémico obtenido mediante dieta hipocalórica en estos enfermos.⁹⁶

Por tanto, la primera intervención a realizar en los pacientes diabéticos es el control de la glucemia, especialmente en los primeros años de evolución de la diabetes dado que en este periodo se puede determinar la posible aparición de nefropatía. En las fases más avanzadas, cuando la proteinuria es superior a 300 mg/24 h y comienza la fase de descenso glomerular, es decir, en la fase de nefropatía diabética clínica, donde el control metabólico pierde la relevancia en la evolución de la enfermedad,^{73,39,97} y otros posibles factores como la HT A pasan jugar un papel mayor que el control metabólico en el desarrollo de la enfermedad renal. Hay que resaltar que en el enfermo diabético con insuficiencia renal, la hemoglobina glucosilada sigue siendo un marcador útil de control glucémico a pesar de la interferencia cromatográfica ocasionada por la uremia.⁹⁸

El otro parámetro importante es el NAG. Como podemos observar en la Figura 9 se produce un aumento progresivo de la **actividad urinaria de la N- acetil beta glucosaminidasa** conforme aumenta el grado de afectación renal en los pacientes diabéticos.

De forma global existen diferencias estadísticamente significativas en la NAG urinaria entre los controles sanos y los pacientes diabéticos.

De forma pormenorizada en cada grupo se puede observar que existieron diferencias significativas entre los controles sanos y los diabéticos con nefropatía Grado I-II ($p < 0,02$), Grado III ($p < 0,001$) y Grado IV ($p < 0,001$) como se expone en las Tablas XXX a XXXII.

Entre los grupos de pacientes diabéticos solamente existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Grado I-II y Grado III (Tabla XXXIV) y no así entre los otros grupos.

A la vista de estos resultados podemos afirmar que en la nefropatía diabética se produce un incremento en la actividad de la NAG y que esta se hace mayor conforme aumenta el grado de la nefropatía. En las fases incipientes de la enfermedad, y es un hecho de gran trascendencia de cara al diagnóstico precoz, se produce un incremento

de este enzima responsable del metabolismo de macromoléculas complejas a nivel de la membrana endotelial,⁹⁹ pero además la NAG también juega un importante papel en la patogenia de otras complicaciones vasculares de la diabetes.¹⁰⁰

El aumento de la excreción urinaria de NAG en las fases avanzadas de la nefropatía diabética, puede ser un indicador de daño tubular, pero en las fases incipientes de la enfermedad renal, es el resultado de un incremento de su actividad a nivel glomerular siendo el responsable del deterioro de la membrana basal glomerular. No es solo este enzima el que se altera ya que Marhun¹⁰¹ encontró elevaciones del N-acetil- β -glucosaminidasa, α -glucosidasa y trehalasa.

Como consecuencia del aumento de la actividad de estos enzimas lisosómicos, es obvio pensar que aceleran el metabolismo de los componentes de la MBG y entre ellos de los glucosaminoglicanos.

El dato llamativo que queremos hacer resaltar, es que existió correlación de la NAG urinaria con la hemoglobina glicosilada en los grupos de pacientes diabéticos de nuestro estudio (Figuras 18, 22 y 26) y no así en el grupo control (Figura 14). Es irrefutable la influencia que tiene el control de la glucemia en la aparición de las complicaciones de la diabetes entre ellas la nefropatía diabética,¹⁰² y que de forma aislada y en un momento determinado en la evolución de la enfermedad renal, el control de la diabetes va a influir en la actividad de la NAG.^{103,104}

Hace ya diez años que se puso en evidencia la posibilidad de actuar sobre algunos factores de riesgo en la diabetes, que van a influir sobre la evolución de la nefropatía.¹⁰⁵ Se ha demostrado la correlación entre el grado de control de la diabetes y el desarrollo con el tiempo de microalbuminuria,¹⁰⁶ lo que lleva a suponer que el mal control favorecería la aparición de nefropatía. Otros estudios también encuentran relación entre el nivel de hemoglobina glicosilada y el desarrollo de cardiopatía isquémica.¹⁰⁷

La correlación entre el nivel de hemoglobina glicosilada y el riesgo de terminar desarrollando una insuficiencia renal en el paciente diabético no está claramente demostrado en los estudios prospectivos, pero al igual que nosotros, en otros estudios detectan asociación inversa entre la hemoglobinaa glicosilada y la excreción urinaria de albúmina.¹⁰⁸ La alteración de la actividad de NAG urinaria es un reflejo de los cambios ocurridos en el riñón del paciente diabético, aunque todo esto, es un

problema difícil de evaluar, dadas las complejas interrelaciones entre muchos de los factores que influyen en la instauración de la enfermedad renal.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4.400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978; 1: 168-188.
- ² Tchobroytsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetología* 1978; 15: 143-152.
- ³ Skyler, JS. Complications of diabetes mellitus: relationship to metabolic dysfunction. *Diabetes Care* 1979; 2: 499-509.
- ⁴ Harvey JN. Diabetic nephropathy. *Br Med J* 2002; 325: 59-60.
- ⁵ Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney from hyperfiltration and microalbuminuria failure. *Med Clin North Am* 1988; 1465-1492.
- ⁶ Uesugi N, Sakata N, Horiuchi S, Nagai R. Glycoxilation modified macrophages and lipid peroxidation products are associated with the progression of human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 1016-1025.
- ⁷ Van den Born J, Van den Heuvel PWJ, Baker MAH, et al. A monoclonal antibody against GBM heparan sulfate induces an acute selective proteinuria in rats. *Kidney Int* 1992; 41: 115-123.
- ⁸ Pérez Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodriguez Cuartero A. Urinary excretion of GAG in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron* 1996; 73: 344-345.
- ⁹ Kefalides NA. Biochemical properties to human glomerular basement membrane in normal and diabetic kidneys. *J Clin Invest* 1974; 53: 403-407.
- ¹⁰ Gundersen HJG, Osterby R. Precise quantitation of glomerular basement membrane morphology. *Renal Physiol* 1980; 3: 303-311.
- ¹¹ Brensing KA, Raab P, Frotscher U. Diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 2002; 347: 947-948.
- ¹² Veldman BA, Vervoort G. Pathogenesis of renal microvascular complications in diabetes mellitus. *Neth J Med.* 2002; 60: 390-396.
- ¹³ Williamson JR, Tilton RG, Chang K, Kilo C. Basement membrane abnormalities in diabetes mellitus: relationship to clinical microangiopathy. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 339-370.
- ¹⁴ Pérez Blanco FJ, Cabello MJ, Huertas JM. Indicadores bioquímicos precoces de daño renal en la hipertensión arterial. *An Med Intern* 1998; 15: 270-275.

-
- ¹⁵ Messerli FH, Frohlich DE, Dreslinski DR et al. Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Ann Intern Med* 1980; 93: 817-821.
- ¹⁶ Dura Trave T, Moya Benavent M, Casero Ariza J. Hipouricemia renal en la diabetes mellitus infanto-juvenil. *An Esp Pediatr* 1996; 44: 425-428.
- ¹⁷ Crook M. Hypouricaemia in a hospital population. *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53: 883-885.
- ¹⁸ Parving HH, Oxenboll B, Svendsen PAA et al. Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy. A longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinol* 1982; 21: 725-729.
- ¹⁹ Viberti CC, Wiseman M, Mackintosh D et al. Peut-on prevenir la néphropathie diabétique? Journées de diabétologie-Hotel Dieu, De Flammarión, Paris. 1983: 78-87.
- ²⁰ Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 310: 89-93.
- ²¹ Waters PJ, Flynn MD, Corrall RJM et al. Increases in plasma lysosomal enzymes in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992; 35: 991-995.
- ²² Goi G, Fabi A, Lorenzi R, Lombardo A, et al. Serum enzymes of lisosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glycated hemoglobin and albumin, *Acta Diabetol Lat* 1986; 23: 117-125.
- ²³ Bienkowski MJ, Conrad HE. Kinetics of proteoheparan sulfate synthesis, secretion, endocytosis, and catabolism by a hepatocyte cell line. *J Biol Chem* 1984; 259: 989-996.
- ²⁴ Vidal P, Deckert T, Andreassen H, et al. Loss of charge selectivity, non pore size, accompanics microalbuminuria in diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1992; 35 (suppl 1): 144.
- ²⁵ Xu X, Wu Z, Zhou Q, Zhang Y, Wu D. The role of determining the levels of serum collagen type IV in diagnosing early dianetic nephropathy. *Renal Fail* 2002; 24: 747-753.
- ²⁶ Myers BD, Winetx JA, Chui F et al. Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int* 1982; 21: 633-639.
- ²⁷ Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al. Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1986; 229: 634-639.

- ²⁸ Pérez-Blanco FJ, Muñoz Casaubón T, Miras Parra F, Pérez Chica P, Rodríguez Cuartero A. Urinary activity of beta-glucuronidase and excretion of glycosaminoglycans in the diagnosis of diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 2000; 53: 156-158.
- ²⁹ Pérez-Blanco FJ, Sabatel G, Cantero J, Rodríguez Cuartero A. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidasa excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1998; 49: 132-134.
- ³⁰ Rodríguez Cuartero A, Barcelona-Martín F. Urinary B-glucuronidasa excretion in insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetes nephropathy. *Clin Nephrol* 1997; 48: 135.
- ³¹ Waters PJ, Flynn MD, Corral RJM et al. Increases in plasma lysosomal enzymes in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992; 35: 991-995.
- ³² Pérez-Blanco FJ, Ruiz Martín A, Moreno Terribas G. Urinary activity of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) in arterial hypertension. *Clin Nephrol* 1996; 45: 65-66.
- ³³ Zafirouska KG, Bogdanouska SV. Urinary excretion of three specific renal tubular enzymes in patients treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ren Fail* 1993; 15: 51-54.
- ³⁴ Weitgasser R, Schnoell F, Gappmayer B, Karting I. Prospective evaluation of urinary N-acetyl beta glucosaminidase with respect to macrovascular disease in elderly type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22: 1882-1887.
- ³⁵ Fogo AB. Diabetic nephropathy: it's in the numbers. *Kidney Int* 2002; 61: 2274-2275.
- ³⁶ Jung K, Pergande M, Schimke E et al. Urinary enzymes and Low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic nephropathy. *Clin Chem* 1988; 34: 544-547.
- ³⁷ Stolarek I, Howey J.E.A, Fraser C. Biological variation of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase: Practical and clinical implications. *Clin Chem* 1989; 35: 560-563.
- ³⁸ Koh KT, Chia KS, Tan C. Proteinuria and enzymuria in non-insulin-dependent diabetics. *Diabetes Res Clin Pract* 1993; 20:215-221.
- ³⁹ Pérez-Blanco FJ, Manzanares L, Moreno G .Microalbuminuria y NAG urinario en la nefropatía diabética. XIV Congreso Soc. Andaluza Medicina Interna Ubeda (Jaén) 1996.
- ⁴⁰ Pérez-Blanco FJ, Sabatel Hernández G, Cantero J. Actividad urinaria del NAG en el hipertenso diabético. V Reunión Andaluza Hipertensión Arterial. Marbella. 1995.
- ⁴¹ Sheldon T, McFarlane PA, Naimack D. Microalbuminuria in diabetes mellitus. *Cann Med Assoc J* 2002; 167: 499-505.

- ⁴² Wakisa Kam, Numoi K, Iwasem et al. Early development of nephropathy in a new model of spontaneously hypertensive rat with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1988; 31:291-296.
- ⁴³ Jungmann E, Kruger K, Semler B et al. Nephroprotektive Wirkung von Ramipril. Einfluss von Blutdruck-und Stoffwechse-leinstellung bei Insulin-behandelten patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus. *Fortschr Med* 1994; 112: 39-42.
- ⁴⁴ Holdaas H, Hartmann A, Berg KJ et al. Contrasting effects of angiotensin converting inhibitor and alpha-1-antagonist on albuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus patients with nephropathy. *J Intern Med* 1995; 237: 63-71.
- ⁴⁵ Maruhn D, Gielow L, Bock KD. Differences of urinary enzyme excretion in essential and renal hypertension. *Proc. 6th. Int. Symp. Clin. Enzymol.* 1974; 1: 505-515.
- ⁴⁶ Rao GM, Morghom LO, Abukhris AA. Serum beta-glucosidases in diabetes mellitus. *Clin Physiol Biochem* 1998; 7: 161-164.
- ⁴⁷ Kikkawara R, Koya D, Haneda M. Preogression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003; 3 (suppl.3): S19-S21.
- ⁴⁸ Ansari A, Thomas S, Goldsmith D. Assessing glycemic control in patients with diabetes and end-stage renal failure. *Am J Kideney Dis* 2003; 41: 523-531.
- ⁴⁹ Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in normal and diabetic man during elevation of blood sugar levels. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28: 177-181.
- ⁵⁰ Altura BM, Halevy S, Turlapaty PDMV. Vascular smooth muscle in diabetes and its influence on the reactivity of blood vessels. *Adv Microcir* 1979; 8: 118.
- ⁵¹ Messerli FH, Fhrolich DE, Dreslinski G et al. Serum uric acid in essential hypertension. *Ann Intern Med* 1980; 93: 817-821.
- ⁵² Steassen J. The determinants and prognostic significance of serum acid in elderly patienteçs of the European working party on high blood pressure the elderly trial. *Am J Med* 1991; 90: 505-545.
- ⁵³ Castelman B, Smithwick RH. The relation of vascular disease to the hypertensive state the adequacy of the renal biopsy as determined from a study af 500 patients. *N Engl J Med* 1984; 310: 729-732.
- ⁵⁴ Mogensen CE, Christiansen CK, Vittingus E et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32 (suppl 2): 64-78.

-
- ⁵⁵ Viberti GC. Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1979; 12: 47-53.
- ⁵⁶ Viberti GC, Keen H. The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 73: 686-692.
- ⁵⁷ Mogensen CE, Christiansen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311: 89-93.
- ⁵⁸ Houlihan CA, Tsalamandris C, Akdeniz A, Jerumus G. Albumin to creatinine ratio: a screening test with limitations. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1183-1189.
- ⁵⁹ DCCT Research Group. Diabetes control and complications trial: update. *Diabetes Care* 1990; 13: 427-433.
- ⁶⁰ United Kingdom Propective Diabetes Study 17. A 9-years update of a randomized, controlled trial on the effect of improved metabolic control on complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1996; 124: 136-145.
- ⁶¹ Christiansen JS, Gammelgaard J, Frandsen M, et al. Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 451-456.
- ⁶² Esmatjes E, Fernández MR, Halperin I, et al. Renal haemodynamic abnormalities in patients with short-term insulin dependent mellitus: role of renal prostaglandins. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 1231-1236.
- ⁶³ Stalder G, Schmid R. Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal haemodynamics in treated diabetes mellitus during childhood. *Am Pediatric* 1959; 193: 128-138.
- ⁶⁴ Ditzel J, Junker K. Abnormal glomerular filtration rate, renal plasma flow and renal protein excretion in recent and short-term diabetics. *Br Med J* 1972; 2; 13-19.
- ⁶⁵ Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short term and long term juvenile diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 28: 99-100.
- ⁶⁶ Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications: *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-537.
- ⁶⁷ Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al. Advanced glycosylation and products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325: 836-842.

- ⁶⁸ Wiseman MJ, Andrew J, Saunders Mb. Effect of blood glucose control on increased glomerular filtration rate and kidney size in insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 1985; 312: 617-619.
- ⁶⁹ Fine L. The biology of renal hypertrophy. *Kidney Int* 1986; 29: 89-93.
- ⁷⁰ Mogensen CE, Steffes MW, Deckert T, et al. Functional and morphological renal manifestations in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 21: 89-93.
- ⁷¹ Mauer SM, Steffes MW, Connet J, Najarian S, Sutherland DER, Barbosa J. The development of lesions in the glomerular basement membrane and mesangium after transplantation of normal kidney to diabetic patients. *Diabetes* 1983; 32: 948-952.
- ⁷² Gimenez LF, Watson AJ, Burrow CR, Olsson JL, Klassen DK, Cooke CR. De novo diabetic nephropathy with functional impairment in renal allograft. *Am J Nephrol* 1986; 16: 378-381.
- ⁷³ Hasslacher Ch, Stech W, Wahl P, Ritz E. Blood pressure and metabolic control as risk factors for nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1985; 28: 6-11.
- ⁷⁴ Mathiesen ER, Saurbrey N, Hommel E, Parving HH. Prevalence of microalbuminuria in children with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1986; 29: 640-643.
- ⁷⁵ Fogo AB. Diabetic nephropathy: it's in the numbers. *Kidney Int* 2002; 61: 2274-2275.
- ⁷⁶ The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
- ⁷⁷ Mulec H, Blohme G, Grande B, Bjorck S. The effect of metabolic control on rate of decline in renal function in insulin-dependent diabetes mellitus with overt diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 651-655.
- ⁷⁸ Krolewski AS, Warran JH, Freire MB. Epidemiology of late diabetic complication: A basis for the development and evaluation of prevention programs. *Endocrinol Metab Clin North America* 1996: 217-242.
- ⁷⁹ Mogensen CE. Renal functional changes in diabetes. *Diabetes* 1976; 25 (suppl 2): 872-879.
- ⁸⁰ Wiseman MJ, Mangili R, Alberetto M. Mechanisms of the glomerular response to glycemic changes in insulin-dependent diabetic subjects. *Kidney Int* 1987; 31: 1012-1018.
- ⁸¹ Christiansen JS, Frandsen M, Parving HH. The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1981; 20: 199-204.

- ⁸² Mogensen CE, Christiansen NJ, Gundersen HJC. The acute effect of insulin on renal haemodynamics and protein excretion in diabetes. *Diabetologia* 1978; 15: 153-157.
- ⁸³ Uitto J, Peredja A, Grant GA, et al. Glycosylation of human glomerular basement membrane collagen: with diabetes. *Connective Tissue Res* 1982; 10: 287-296.
- ⁸⁴ Blantz RC, Petersen OW, Gusbwa L et al. Effect of modest hyperglycaemia on tubuloglomerular feedback activity. *Kidney Int* 1982; 22 (suppl. 12): 206-212.
- ⁸⁵ Carreras LO, Chamone DAF, Klerck P, et al. Decreased vascular prostacyclin (PG 12) in diabetics rats. Stimulation of PG 12 release in normal and diabetic rats by the antithrombotic compound Bay 9 6375. *Thromb Res* 1980; 19: 663-670.
- ⁸⁶ Kasiske BL, O'Donoghue MP, Keane. Glucose-induced increases in renal haemodynamic function: possible modulation by renal prostaglandins. *Diabetes* 1985; 34: 360-364.
- ⁸⁷ King GL, Banskota NK. 1994. Mechanisms of diabetic microvascular complications. En: Khan CR, Weir GC. Eds. *Joslin's. Diabetes mellitus*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1994: 631-647.
- ⁸⁸ Reddi AS. Diabetes nephropathy. An update. *Arch Intern Med* 1990; 150: 31-43.
- ⁸⁹ Hostetter M, Rennke HG, Brenner BM. The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. *Am J Med* 1982; 72: 375-380.
- ⁹⁰ UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837-853.
- ⁹¹ Obkubo Y, Kisbikawa H, Araki E, et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 28: 103-117.
- ⁹² UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352: 854-865.
- ⁹³ Feldt-Rasmussen B, Matbiesen ER, Deckert T. Effect of two years of strict metabolic control on progression of incipient nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1986; 2: 1300-1304.
- ⁹⁴ Goicoelea Opacua I, Vazquez García JA, Fombuena Cortazar J, Hernández Cojar L. Evolución de la tasa de filtración glomerular y otros parámetros renales en la diabetes

- mellitus insulinodependiente a medio plazo. Efecto del tratamiento estricto con bomba de infusión continua subcutánea. *Med Clin (Bar)* 1986; 87: 657.
- ⁹⁵ Feldt Rasmussen B, Matbiesen ER, Hegedus L, Deckert T. Kidney function during 12 months of strict metabolic control in insulin-dependent diabetic patients with incipient nephropathy. *N Engl J Med* 1986; 314: 665-670.
- ⁹⁶ Vasquez B, Flock EV, Savage PJ, Nagulesparan M, Bennion LJ, Baird HR, Bennet PH. Sustained reduction of proteinuria in type 2 diabetes following diet induced reduction of hyperglycemia. *Diabetologia* 1984; 26: 12-13.
- ⁹⁷ Christensen JS Parving HH. The effect of short term strict metabolic control on albuminuria in insulin-dependent diabetics with normal kidney function and diabetic nephropathy. *Diab Nephropathy* 1984; 3: 127-129.
- ⁹⁸ Saloranta C, Groop L, Ylinen K, Terano K, Tolppanen EM, Tallgren LG. The usefulness of micro and macrochromatographic determinations of glycohemoglobin in diabetic patients with nephropathy. *Clin Nephrol* 1986; 25: 186-192.
- ⁹⁹ Hansen CH, Irmischer AK, Kuhlemann K, Beyer J, Kahaly. Insulin dependent diabetes mellitus and glycosaminoglycans. *Horm Metab Res* 1995; 27: 555-558.
- ¹⁰⁰ Brown DM, Charonis AS, Furcht LT, Klein DJ, Maner SM, Steffes MW, Tsihbarg PE. An overview of role of matrix components. *Diabetes Care* 1991; 14: 157-159.
- ¹⁰¹ Maruhn D, Rosenstiel K, Hennewig K, Parr D. Urinary excretion of β -glucuronidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, α -glucosidase and trehalase in diabetes mellitus. *Z Clin Chem Klin Biochem* 1974; 12: 263-266.
- ¹⁰² DCCT Research Group. Diabetes control and complications trial: results of feasibility study. *Diabetes Care* 1987; 10: 1-9.
- ¹⁰³ Monnier VM, Viswanath V, Frank KE et al. Relation between complications of type 1 diabetes mellitus and collagen linked fluorescence. *N Engl J Med* 1986; 314: 403-408.
- ¹⁰⁴ Agardh CD, Agardh E, Isaksson A, Hultberg B. Association between urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and its isoenzyme patterns and microangiopathy in type 1 diabetes mellitus. *Clin Chem* 1991; 37: 1696-1699.
- ¹⁰⁵ The diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.

- ¹⁰⁶ Jude EB, Anderson SG, Cruickshank JK, Srivatsa A. Natural history and prognostic factors of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Q J Med* 2002; 95: 371-377.
- ¹⁰⁷ Singer DE, Nathan DM, Anderson KM, Wilson PW, Evans JC. Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes* 1992; 41: 202-208.
- ¹⁰⁸ Zancada Diaz P, Mena Arias P, Campillo Álvarez JE, Hernández Doménech R, Pérez Aloe MT. Factores de riesgo cardiovascular en la diabetes mellitus no insulino dependiente. Correlación entre microalbuminuria y hemoglobina glicada. *An Med Intern* 1999; 16: 181-185.

CONCLUSIONES

Tras los análisis pormenorizados de nuestros resultados, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. De los marcadores de lesión renal escogidos, solamente la actividad urinaria de N-acetil beta glucosaminidasa está alterada de forma significativa en todos los grupos de enfermos con nefropatía diabética.
2. La excreción urinaria de albúmina está en relación con el grado de afectación renal de estos pacientes, pero solo se encontró correlación con otros parámetros de función renal en los estadios avanzados de la nefropatía.
3. La actividad de N-acetil beta glucosaminidasa en orina aumenta de forma progresiva conforme se deteriora la función renal en el paciente diabético.
4. El grado de control de la diabetes, estudiado mediante la determinación de hemoglobina glicosilada, se correlaciona de forma significativa con el N-acetil beta glucosaminidasa urinario en cada uno de los grupos de pacientes diabéticos con nefropatía.
5. El control de la glucemia en los enfermos con diabetes es un factor a tener en cuenta en el desarrollo de la enfermedad renal crónica que afecta a gran parte de ellos.

ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICADOS	III
AGRADECIMIENTOS	VI
DEDICATORIA	VIII
PRESENTACIÓN	1
INTRODUCCIÓN	4
NEFROPATÍA DIABÉTICA	5
I. DEFINICIÓN	6
II. ESTUDIO DE LA PREVALENCIA	7
III. ETIOPATOGENIA	11
IV. CLÍNICA.....	26
V. HISTORIA NATURAL	40
Bibliografía.....	46
ENZIMAS Y N.A.G.	73
I. ENZIMAS URINARIOS.....	74
II. ESTUDIO DE LA N-ACETIL-BETA-GLUSAMINIDASA	91
Bibliografía.....	105
GLUCACIÓN NO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS	118
I. DIABETES MELLITUS, CONTROL METABÓLICO DE LA DIABETES, GLUCACIÓN, HEMOGLOBINAS.....	119
II. QUÍMICA DE LA GLUCACIÓN.....	119
III. TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN.....	121
IV. APLICACIONES CLÍNICAS	123

V. CONSECUENCIAS BIOLÓGICAS DE LA GLUCACIÓN DE PROTEÍNAS.....	127
VI. POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS.....	134
Bibliografía.....	136
OBJETIVOS	150
Bibliografía.....	153
MATERIAL	154
I. GRUPO DE ESTUDIO.....	155
II. PROTOCOLO.....	156
ANEXO. Protocolo clínico.....	159
Bibliografía.....	161
MÉTODOS	162
I. DETERMINACIONES GENERALES DE LABORATORIO.....	163
II. DETERMINACIONES ESPECIALES.....	164
III. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	169
IV. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO.....	172
V. MÉTODOS DE REDACCIÓN Y ESTILO.....	173
VI. SISTEMAS DE UNIDADES DE MEDIDA.....	173
Bibliografía.....	175
RESULTADOS	177
I. CASUÍSTICA.....	178
II. ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	178
Tablas.....	182
Figuras.....	209

DISCUSIÓN	235
Bibliografía.....	250
CONCLUSIONES	259
ÍNDICES	261

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla I.</i>	Localización de algunos enzimas en fracciones subcelulares	75
<i>Tabla II.</i>	Oxidorreductasas	77
<i>Tabla III.</i>	Transferasas	77
<i>Tabla IV.</i>	Hidrolasas	78
<i>Tabla V.</i>	Liasas	78
<i>Tabla VI.</i>	Estabilidad de los enzimas urinarios a diferente pH tras incubación a 37° durante 2 horas	85
<i>Tabla VII.</i>	Gamma G.T. Urinaria en niños con riñones sanos	88
<i>Tabla VIII.</i>	Gamma G.T. en pacientes con glomerulopatías	89
<i>Tabla IX.</i>	Gamma G.T. Urinaria en enfermedades renales	89
<i>Tabla X.</i>	Valores de A.A.P., F.A., Gamma G.T. y N.A.G. según edad y sexo	90
<i>Tabla XI.</i>	Diferencias en la excreción urinaria de enzimas según sexo	90
<i>Tabla XII.</i>	Actividad de los isoenzimas del N.A.G. en tejidos	91
<i>Tabla XIII.</i>	Actividad del N.A.G. en sujetos sanos. N.A.G. (U/g creatinina)	93
<i>Tabla XIV.</i>	Estadios de la Nefropatía Diabética (Mogensen)	156
<i>Tabla XV.</i>	Límites de referencia y conversión en unidades "SI"	174
<i>Tabla XVI.</i>	Sujetos controles sanos	182
<i>Tabla XVII.</i>	Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II	186
<i>Tabla XVIII.</i>	Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III	190
<i>Tabla XIX.</i>	Pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	192
<i>Tabla XX.</i>	Distribución de la edad en los diferentes grupos	194
<i>Tabla XXI.</i>	Distribución de la edad en los diferentes grupos	194
<i>Tabla XXII.</i>	Estudio de la creatinina sérica en los grupos estudiados	195
<i>Tabla XXIII.</i>	Estudio de la creatinina urinaria en los grupos estudiados	195

<i>Tabla XXIV.</i>	Estudio del aclaramiento de creatinina en los grupos estudiados	196
<i>Tabla XXV.</i>	Estudio de la urea sérica en los grupos estudiados.....	196
<i>Tabla XXVI.</i>	Estudio del ácido úrico sérico en los grupos estudiados	197
<i>Tabla XXVII.</i>	Estudio de la microalbuminuria en los grupos estudiados	197
<i>Tabla XXVIII.</i>	Estudio de la actividad del NAG urinario en los grupos estudiados	198
<i>Tabla XXIX.</i>	Estudio de la hemoglobina glicosilada en los grupos estudiados	198
<i>Tabla XXX.</i>	Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grados I-II.....	199
<i>Tabla XXXI.</i>	Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grado III.....	200
<i>Tabla XXXII.</i>	Comparación de las diferentes variables entre controles sanos y diabéticos con Nefropatía Grado IV	201
<i>Tabla XXXIII.</i>	Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grados I-II y Grado III	202
<i>Tabla XXXIV.</i>	Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grados I-II y Grado IV	203
<i>Tabla XXXV.</i>	Comparación de las diferentes variables entre pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III y Grado IV	204
<i>Tabla XXXVI.</i>	Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de Controles Sanos.....	205
<i>Tabla XXXVII.</i>	Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II	206
<i>Tabla XXXVIII.</i>	Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III	207
<i>Tabla XXXIX.</i>	Correlación de los distintos parámetros bioquímicos estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	208

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i>	Distribución de la edad en los grupos estudiados	209
<i>Figura 2.</i>	Distribución de los casos estudiados según el sexo.....	210
<i>Figura 3.</i>	Creatinina sérica en los grupos estudiados	211
<i>Figura 4.</i>	Creatinina urinaria en los grupos estudiados.....	212
<i>Figura 5.</i>	Aclaramiento de creatinina en los grupos estudiados.....	213
<i>Figura 6.</i>	Urea sérica en los grupos estudiados	214
<i>Figura 7.</i>	Ácido úrico sérico en los grupos estudiados.....	215
<i>Figura 8.</i>	Microalbuminuria en los grupos estudiados.....	216
<i>Figura 9.</i>	NAG urinario en los grupos estudiados	217
<i>Figura 10.</i>	Hemoglobina glicosada en los grupos estudiados.....	218
<i>Figura 11.</i>	Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos	219
<i>Figura 12.</i>	Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos	220
<i>Figura 13.</i>	Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos	221
<i>Figura 14.</i>	Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de controles sanos	222
<i>Figura 15.</i>	Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II.....	223
<i>Figura 16.</i>	Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II.....	224
<i>Figura 17.</i>	Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II.....	225
<i>Figura 18.</i>	Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado I-II	226

<i>Figura 19.</i>	Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III.....	227
<i>Figura 20.</i>	Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III.....	228
<i>Figura 21.</i>	Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III.....	229
<i>Figura 22.</i>	Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado III	230
<i>Figura 23.</i>	Correlación del aclaramiento de creatinina con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	231
<i>Figura 24.</i>	Correlación del ácido úrico sérico con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	232
<i>Figura 25.</i>	Correlación de la microalbuminuria con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	233
<i>Figura 26.</i>	Correlación del NAG urinario con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de pacientes diabéticos con Nefropatía Grado IV	234