

T. D.
R/132

ACTIVIDAD CONTRATRANSPORTE SODIO-LITIO EN
DIABETES TIPO 1 (INSULIN-DEPENDIENTE)
DE CORTA EVOLUCION.

tesis presentada por

Federico Relimpio Astolfi

bajo la dirección de

Joaquín Carneado de la Fuente

y

Domingo Acosta Delgado

para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Sevilla, a 9 de Marzo de 1994.

R.22910



Servicio Andaluz de Salud

GERENCIA PROVINCIAL

HOSPITAL UNIVERSITARIO "VIRGEN DEL ROCIO"

Avenida Manuel Siurot, s/n

41013 - SEVILLA

Sevilla, a 29 de marzo de 1994.

JUNTA DE ANDALUCIA

Consejería de Salud



Don Joaquín Carneado de la Fuente, profesor titular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla, y Domingo Acosta Delgado, doctor en Medicina y Cirugía:

Comunican:

*Que Federico Relimpio Astolfi, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo de investigación titulado **ACTIVIDAD CONTRATRANSPORTE SODIO-LITIO EN DIABETES TIPO 1 (INSULIN-DEPENDIENTE) DE CORTA EVOLUCION**, y que tal trabajo reúne las condiciones para ser leído y defendido como **TESIS** para optar al grado de doctor en Medicina y Cirugía.*

*Joaquín Carneado de la Fuente.
Profesor titular del Departamento de
Medicina de la Universidad de Sevilla.
Director de la tesis y tutor.*

*Domingo Acosta Delgado.
Doctor en Medicina y Cirugía.
Codirector de la tesis.*

*Federico Relimpio Astolfi.
Licenciado en Medicina y Cirugía.
Doctorando.*

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
 LIBRARY
 at 205 192
 corr
 Sewell

Laura Raffetto

DEDICATORIA.

A mi mujer.

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS.

A Joaquín Carneado, sin cuya dirección y apoyo este proyecto no hubiera sido posible.

A Domingo Acosta, por su inapreciable ayuda, sus consejos, su dedicación y su paciencia.

A Miguel Angel García Donas, por su paciente y constante trabajo en el laboratorio.

A Ricardo Astorga, por su apoyo constante en este y en todos los temas.

INDICE.

INDICE.

1.- Introducción.6

1.1- Concepto, histopatología e historia natural de la nefropatía diabética.7

1.2- Importancia de la nefropatía diabética en el contexto clínico de la DMID.11

1.3- Factores predisponentes a la nefropatía diabética.12

1.3.1.- Control glucémico.12

1.3.2.- Factores genéticos: evidencia epidemiológica.14

1.3.3.- Interacción predisposición genética e hiperglucemia: hipótesis del proteoglicano unido a sulfato de heparán.15

1.3.4.- Hipótesis de la predisposición genética a la hipertensión arterial.16

1.4- El contratransporte sodio-litio y su relación con la hipertensión arterial esencial.17

1.5- El contratransporte sodio-litio y su relación con la nefropatía diabética. 19

1.6.- Influencias exógenas sobre el contratransporte sodio-litio.25

2.- Objetivos.27

3.- Material y métodos.29

3.1.- Pacientes.30

3.2.- Protocolo de estudio clínico.31

3.3.- Controles.34

3.4.- Protocolo de estudio analítico.35

3.5.- Determinación de la velocidad máxima del contratransporte sodio-litio.38

3.6.- Análisis estadístico.40

4.- Resultados.42

4.1.- Estadística descriptiva: grupos de estudio.43

4.1.1.- Grupo diabético.43

4.1.2.- Grupo control.44

4.1.3.- Comparación entre grupos de estudio.45

4.2.- Distribucion del CT Na/Li en los grupos de estudio.47

4.3.- Relacion de la velocidad máxima del CT Na/Li con variables clinicas.48

4.3.1.- Edad.48

4.3.2.- Sexo.48

4.3.2.1.- Grupo control.48

4.3.2.1.- Grupo diabético.49

4.3.2.3.- Consideración del efecto del sexo en ambos grupos.49

4.3.3.- Presión arterial.50

4.3.3.1.- Grupo control.50

4.3.3.2.- Grupo diabético.51

4.3.3.3.- Consideración del efecto del sexo sobre las cifras tensionales en ambos grupos de estudio.53

4.3.3.4.- Consideración del efecto del sexo sobre la relación del CT Na/Li con los valores de presión arterial en ambos grupos de estudio.54

4.3.4.- Historia familiar de hipertensión arterial.55

4.3.4.1.- Grupo control.55

4.3.4.2.- Grupo diabético.56

4.3.5.- Índice de masa corporal.56

4.3.6.- Tiempo de evolución de diabetes.56

4.3.7.- Dosis insulínica.56

4.3.8.- Otras variables de interés.57

4.4.- Relacion de la velocidad maxima del CT Na/Li con variables analíticas.58

4.4.1.- Variables relacionadas con el control glucémico.58

4.4.2.- Variables relacionadas con el perfil lipídico plasmático.59

4.4.3.- Variables relacionadas con la reserva insular.61

4.4.4.- Variables relacionadas con el metabolismo de los cetoácidos.61

5.- Tablas y figuras.62

6.- Discusión.85

7.- Conclusiones.110

8.- Bibliografía.112

INTRODUCCION.

INTRODUCCION.

1.- Concepto, histopatología e historia natural de la nefropatía diabética.

Una de las enfermedades que más radicalmente ha visto cambiar su aspecto en el curso del presente siglo ha sido la diabetes mellitus tipo 1 o insulín dependiente (DMID). Con el descubrimiento de la insulina y la posterior generalización de la insulínoterapia subcutánea, la DMID ha pasado de ser una segura condena de muerte a una enfermedad crónica. En las décadas posteriores a la introducción de la insulina, la nosografía y nosología se enriquecieron con el reconocimiento, descripción y comprensión más o menos detallada de una serie de entidades que impactaban de forma llamativa en la evolución del paciente diabético tipo 1. Se pudo comprobar en este sentido que la supervivencia media del paciente portador de una DMID estaba sustancialmente acortada fundamentalmente por dos trastornos íntimamente relacionados (1, 2). Por un lado, los estudios longitudinales de cohortes efectuados en la población general pusieron de manifiesto que la diabetes en general era un importante factor de riesgo en la aparición de enfermedad cardiovascular (3). Actualmente existen datos convincentes de que la enfermedad cardiovascular aterosclerosa es más precoz, más intensa y de progresión más rápida en el paciente diabético tipo 1, convirtiéndose de este modo en un limitador importante de la supervivencia media de estos pacientes.

Por otro lado, en pacientes diabéticos tipo 1 se reconoció y caracterizó una modalidad concreta de afectación renal conocida como nefropatía diabética (ND).

La afectación renal en el contexto de la DMID típicamente observa una serie de etapas descritas por Mogensen (4) y que resumimos en la tabla 1. En el momento del diagnóstico clínico de la DMID existen dos anormalidades principales en la función renal: agrandamiento renal e hiperfiltración glomerular (5). Desde el punto de vista patológico se encuentra una hipertrofia glomerular; siendo normales tanto el mesangio como la membrana basal. Este conjunto de anormalidades morfológicas y funcionales han sido clasificadas como estadio 1, han sido relacionadas con el grado de perturbación metabólica, son reversibles en semanas o meses de tratamiento insulínico y no son predictivas de nefropatía ulterior (6, 7).

Este estadio 1 se ve seguido de una prolongada fase silente o estadio 2. En este momento el paciente diabético es normoalbuminúrico; es decir, la excreción de proteínas en orina de 24 horas es inferior a 20 μ g/minuto o 30 mg/24 horas. En esta fase puede existir hiperfiltración, que podría asociarse a un mayor riesgo de nefropatía ulterior (8-10). Existen pocos datos estructurales disponibles para esta fase; si bien algunos estudios señalan la presencia de aumento del espesor de la membrana basal glomerular y expansión del mesangio (5). Los datos existentes sugieren que los principales determinantes de la hiperfiltración glomerular en este estadio son control glucémico (HbA_{1c}) y volumen renal (11-13).

En una proporción significativa de pacientes, estimada según varios estudios entre el 30 y el 40%, se da una progresión hacia el estadio 3 (14, 15). El reconocimiento de esta fase fue consecuencia del desarrollo de técnicas sensibles para la medición de pequeñas cantidades de albúmina urinaria (16-18). La

microalbuminuria está definida como la excreción urinaria persistente, medida por estas técnicas, de una cantidad de albúmina comprendida entre 20 y 200 μ g/minuto, lo que viene a corresponder a 30 y 300 mg/24 horas (19). El estadio 3 se caracteriza por la persistencia e incremento de la magnitud de la microalbuminuria, se acompaña frecuentemente de una elevación de cifras tensionales y tiene un más que notable poder predictor para el paso a la siguiente fase (19-21). En esta misma fase tiene lugar el comienzo de la lenta disminución de la tasa de filtración glomerular. Los cambios patológicos son similares a los descritos para la fase anterior, aunque dotados de mayor intensidad (22). Esta fase se ha denominado nefropatía diabética incipiente (4, 20). Su interés radica en que un esfuerzo considerable en esta fase por lograr controlar niveles tensionales y mejorar el control glucémico puede lograr aplanar sustancialmente las pendientes de elevación de excreción de proteínas en orina y de descenso de la tasa de filtración glomerular (23-28).

El estadio 4 también se denomina nefropatía manifiesta, abierta o establecida. Se define como la excreción de proteínas en orina en cantidad suficiente como para hacer positivos los test clásicos de detección de proteinuria (proteinuria superior a 200 μ g/minuto o 300 mg/24 horas), y recibe el nombre de macroalbuminuria. Esta fase se acompaña de mayor incremento del espesor de la membrana basal y de la expansión del mesangio, conjuntamente con oclusión glomerular a velocidad creciente (29). Durante esta etapa se objetiva una caída progresiva de la tasa de filtración glomerular y una elevación importante de las

<i>Estadio y secuencia cronológica</i>	<i>Designación</i>	<i>Características principales</i>	<i>Principales alteraciones estructurales</i>
<i><u>Estadio I</u> En el momento del diagnóstico clínico</i>	<i>Estadio de hiperfunción e hipertrofia (a)</i>	<i>Agrandamiento renal e hiperfiltración glomerular</i>	<i>Hipertrofia glomerular; membrana basal y mesangio normales</i>
<i><u>Estadio II</u> Diabetes a corto plazo (1-15 años)</i>	<i>Estadio "silente" con excreción normal de albúmina en orina, pero con presencia de lesiones estructurales</i>	<i>Excreción normal de albúmina en orina</i>	<i>Ninguno o pocos estudios</i>
<i><u>Estadio III</u></i>	<i>Nefropatía diabética incipiente (o "paciente con alto riesgo")</i>	<i>Excreción de albúmina urinaria persistentemente elevada (20-200 µg/minuto)</i>	<i>Severidad: probablemente entre II y IV</i>
<i><u>Estadio IV</u></i>	<i>Nefropatía diabética manifiesta (o abierta)</i>	<i>Proteinuria clínica o excreción de albúmina urinaria > 200 µg/minuto</i>	<i>Mayor incremento del espesor de la membrana basal y de la expansión del mesangio; velocidad creciente de oclusión glomerular</i>
<i><u>Estadio V</u></i>	<i>Uremia</i>	<i>Insuficiencia renal en sus estadios finales</i>	<i>Hipertrofia de los glomérulos remanentes Oclusión glomerular generalizada</i>

Tabla 1.- Estadios de la nefropatía diabética.

cifras tensionales, aún cuando la creatinina sérica pueda mostrar valores normales (14, 15). En esta etapa es frecuente observar un deterioro en múltiples facetas del paciente: empeoramiento de la retinopatía hasta la amaurosis (30), concomitancia de una neuropatía severa somática y/o autonómica (31) y rápida progresión de la enfermedad aterosclerótica cardiovascular (32). La fase o estadio 5 es el subyugado por la insuficiencia renal crónica terminal, que añade un cortejo sintomático nada

desdeñable a la situación previa, y que configura el terrible síndrome diabético tardío. En estas etapas, el paciente diabético frecuentemente refiere el haber olvidado a qué se parecía sentirse razonablemente bien.

2.- Importancia de la nefropatía diabética en el contexto clínico de la DMID.

Descrito el panorama fisiopatológico y clínico de la ND, estamos en condiciones de apreciar lo terrible del descubrimiento de una nefropatía establecida y el ensombrecimiento notable del pronóstico que supone. Hemos comenzado expresando que hoy reconocemos que enfermedad aterosclerótica precoz y nefropatía son los más importantes limitantes de la supervivencia para el paciente diabético tipo 1. Es importante expresar como ambos factores están íntimamente en relación hasta el punto de que todo diabético que desarrolla una nefropatía acelera de modo inusitado el proceso aterosclerótico diseminado por todo el árbol arterial, y que la concomitancia de ambos procesos se encuentra en la raíz de un deterioro general más que notable, verdadera antesala de la muerte (1, 2). Sin medidas especiales, en torno a un 50% de pacientes fallecerán en siete años tras la instauración de proteinuria persistente (14, 15). La mayor parte del exceso de mortalidad entre pacientes diabéticos tipo 1 se asocia con la proteinuria (33); aquéllos con una excreción de albúmina urinaria normal tienen una supervivencia similar a los no diabéticos.

Como hemos destacado con anterioridad, este proceso no es destino inexorable de toda la población diabética tipo 1. Más bien al contrario, afecta a un

subgrupo que supone entre el 30 y el 40% del total (14, 15). Teniendo en cuenta lo mucho que supone para el diabético tipo 1 en cantidad y calidad de vida el desarrollo de una nefropatía, es lógico que se insista en el reconocimiento de los factores que confieren un mayor riesgo en este sentido en etapas precoces de la evolución. Ello permitirá describir a una subpoblación de elevado riesgo donde poder concentrar esfuerzos como maniobras preventivas o enlentecedoras eficaces.

Los métodos analíticos primitivos nos permitían detectar la nefropatía establecida. El esfuerzo por detectar precozmente a esta población llevó a la mejora de los recursos analíticos (16-18), la observación de la microalbuminuria persistente como condición de elevado riesgo para la nefropatía ulterior y la definición del estadio 3 o nefropatía incipiente (4, 19-21) . Varias maniobras terapéuticas realizadas en este momento pueden aminorar o enlentecer las anormalidades fisiopatológicas renales y retrasar notablemente la expresión de una nefropatía (23-28). Es lógico pretender ahora conocer los factores presentes en el diabético de corta evolución (etapa prenefropática) que pueden conferir un elevado riesgo de desarrollar una ND.

3.- Factores predisponentes a la nefropatía diabética.

3.1.- Control glucémico.

La descripción de una complicación en el contexto de la DMID nos obliga a considerar la posibilidad de que las anormalidades metabólicas propias de la



enfermedad en si puedan justificar la presencia de tal complicación. Por ello, parece razonable intentar apreciar en qué grado el control metabólico (el "grado" de diabetes, si se nos permite) juega un papel importante en el desarrollo de nefropatía. En páginas anteriores hemos comentado la asociación entre hiperfiltración glomerular y desarrollo posterior de nefropatía (8-10), y la relación existente entre hiperglucemia crónica e hiperfiltración glomerular (12-13). Del mismo modo, se conoce que el control glucémico estricto puede reducir o normalizar tanto la microalbuminuria como la hiperfiltración glomerular (26-28). El punto de vista prevaleciente en la actualidad asigna una importancia relativa del control glucémico en la patogénesis de la ND (15). Se ha descrito como la hiperfiltración glomerular es un rasgo muy característico de la DMID. Este factor se asocia en alguna medida con el control glucémico a largo plazo, pero la correlación no es muy estricta. Se supone que los diabéticos tipo 1 que no presentan una hiperfiltración importante a pesar del mal control metabólico pueden ser los que en alguna medida estén protegidos contra el desarrollo de nefropatía diabética. Por otra parte, aquellos pacientes con mal control metabólico combinado con hiperfiltración son probablemente los que desarrollan una nefropatía. Además, se piensa que las aberraciones metabólicas de la diabetes y sus cambios subsiguientes en la bioquímica de la pared glomerular son factores absolutamente necesarios para desarrollar la ND. En resumen, el mal control glucémico parece una condición necesaria en el desarrollo de la nefropatía, pero necesita otro factor que nos seleccione un subgrupo de pacientes predispuestos al desarrollo de la misma.

El importante papel jugado por la hiperglucemia crónica en el desarrollo de la ND parece confirmado además por los hallazgos del recientemente publicado estudio

multicéntrico DCCT (34): una reducción con terapia intensiva de la incidencia de microalbuminuria de un 39% (intervalo de confianza del 95%: 21 al 52%), y de la de macroalbuminuria de un 54% (intervalo de confianza del 95%: 19 al 74%).

3.2. Factores genéticos: evidencia epidemiológica.

Se ha señalado repetidamente que la susceptibilidad a la ND tendría importantes determinantes genéticos (35, 36). Existen muchos datos que nos confirman tal punto de vista, comenzando por la propia historia natural de la enfermedad. Está bien descrito como la incidencia de nefropatía abierta es máxima durante la segunda década de evolución de la DMID, para declinar posteriormente (14). Ello se ha interpretado en el sentido de que la nefropatía se instauraría tan sólo en un subgrupo de pacientes predispuestos, cayendo la incidencia una vez que este subgrupo está afectado, al no existir nuevas incorporaciones por parte de los no predispuestos (35). Seaquist et al han encontrado ND en 2 de 12 diabéticos hermanos de diabéticos tipo 1 sin ND (17%), frente a 24 nefrópatas encontrados entre 29 diabéticos hermanos de diabéticos tipo 1 con ND (83%)(37). Estos resultados muestran la tendencia al agrupamiento familiar de la ND y señalan que la herencia es importante en el desarrollo de tal entidad, aunque los mismos autores destacaron la imposibilidad de descartar que posibles factores ambientales explicaran esta asociación familiar.

3.3.- Interacción predisposición genética e hiperglucemia: hipótesis del proteoglicano unido a sulfato de heparán.

Algunos autores han propuesto que el factor que selecciona en la predisposición a la ND podría ser la existencia de diferencias genéticas en la regulación de la biosíntesis de la matriz extracelular (38). Shimomura y Espiro (39) han demostrado que la densidad de proteoglicano unido al heparán sulfato está reducida al 50% en las membranas basales glomerulares de los pacientes con glomerulosclerosis. Se han demostrado cambios similares en los vasos coronarios extramurales de los pacientes diabéticos (40). La disminución de la densidad de proteoglicano unido al heparán sulfato en la membrana basal glomerular conllevaría la pérdida de lugares aniónicos, cuya consecuencia sería el incremento en la filtración de moléculas cargadas negativamente, como la albúmina (41). Parece demostrado que el proteoglicano unido al sulfato de heparán contribuye a mantener a las células mesangiales (42) y miomediales (43) en estado de reposo. La disminución de la densidad de proteoglicano unido a sulfato de heparán, en cultivos celulares de células mesangiales, se asoció a la proliferación de estas células (42). Parece igualmente demostrado que esta molécula es importante en la preservación de la integridad estructural de las hendiduras interendoteliales de los grandes vasos, y que posee propiedades antiaterógenas y antitrombóticas (38). Existen datos sugerentes de que el hecho más precoz en la nefropatía diabética incipiente sería la alteración cualitativa de la matriz de la membrana basal glomerular, con pérdida de lugares aniónicos y, por tanto, de la selectividad de carga (38). Esta disminución en la densidad de proteoglicano unido al sulfato de heparán en la matriz

extracelular de la membrana basal glomerular y grandes vasos podría relacionarse con la hiperglucemia por varios mecanismos, como el incremento mediado por la hiperglucemia de la expresión del colágeno IV (44), la disminución mediada por la misma circunstancia de la actividad de la N-deacetilasa (45), o la glicación no enzimática del colágeno IV y fibronectina (46). Al margen del propio efecto del ambiente glucémico, se ha sugerido que ciertos defectos genéticos de la expresión del proteoglicano unido al sulfato de heparán, o bien de los mecanismos implicados en su sulfatación podrían explicar la existencia de una predisposición genética a la nefropatía en pacientes portadores de DMID, sobre la que actuarían los ya mencionados efectos adquiridos de la hiperglucemia (38).

3.4.- Hipótesis de la predisposición genética a la hipertensión arterial.

Un aspecto interesante en este contexto es el hecho constatado de que la presión arterial es normal al comienzo de la diabetes y permanece así en pacientes con excreción de albúmina urinaria normal (47). La relación presión arterial-riñón en diabetes es compleja. La habitual elevación de presión arterial que acompaña a la microalbuminuria persistente ha permitido plantear que aquella circunstancia sea secundaria a la disfunción renal. Dado que los pacientes microalbuminúricos tienen una filtración glomerular normal o elevada, es improbable que la elevación de la presión arterial sea simplemente consecuencia de la disfunción renal. Algunos grupos de estudio han encontrado que la elevación en la tasa de excreción renal de proteínas es anterior a la instauración de hipertensión arterial (HTA) (48), hallazgo no compartido por otros (49). En cualquier caso, el punto de vista predominante

resalta la estrecha y paralela relación entre microalbuminuria y elevadas cifras tensionales como cambios precoces y prácticamente universales en la instauración de la nefropatía diabética incipiente (35). Del mismo modo, permanece controvertida la cuestión DMID y prevalencia de HTA. Mientras algunos autores encuentran mayores cifras tensionales en la población diabética tipo 1 que en controles (50, 51), otros no observan tal diferencia (52) o encuentran la misma prevalencia de HTA en diabéticos tipo 1 que en la población general (53). La hipótesis de la predisposición genética a la hipertensión arterial en el desarrollo de la ND se ha apoyado además en el hallazgo de una mayor presencia de antecedentes familiares de HTA en diabéticos tipo 1 con ND que en aquéllos libres de tal complicación (20, 21). En este sentido, Viberti et al han medido la presión arterial a un grupo de padres de diabéticos proteinúricos y a un grupo de padres de diabéticos sin tal complicación y han encontrado cifras de presión sistólica y diastólica significativamente más elevadas en aquéllos (54), aunque el solapamiento es considerable. Tal punto de vista nos une la comprobada agregación familiar de la ND con la bien documentada e íntima relación HTA-ND.

4.- El contratransporte sodio-litio y su relación con la hipertensión arterial esencial.

La hipertensión arterial esencial es una entidad de notable prevalencia que en una parte considerable puede estar genéticamente determinada (55). Existen datos a favor de que una elevada actividad del contratransporte sodio-litio, medida en eritrocitos, sea un marcador genético de tal entidad (56). El contratransporte sodio-

litio (CT Na/Li) es un sistema de transporte insensible a ouabaína y bumetanida que promueve el intercambio in vivo de sodio por sodio a través de membranas biológicas (56). Puede también intercambiar otros cationes monovalentes dependiendo de condiciones intra y extracelulares (57). Este sistema de transporte posee una afinidad veinte veces mayor por el litio que por el sodio, y no acepta otros cationes mono o bivalentes excepto, probablemente, el hidrogenión (58). A elevadas concentraciones de sodio, litio o ambos, el sistema se satura (56). Está bien descrito como la velocidad máxima de este sistema experimenta una notable variabilidad interindividual debida, al menos en parte, a factores genéticos (49). Tanto la influencia genética como la relación con la HTA han sido confirmadas (60); por ello, se considera en la actualidad que una elevada velocidad máxima del CT Na/Li es un marcador genético de predisposición a la HTA en la población general.

Dado que el cation litio no se encuentra intracelularmente a los niveles usados en estos ensayos de transporte transmembrana, se ha cuestionado el sentido biológico del CT Na/Li. La opinión más aceptada en la actualidad es que se trata de un modo de funcionamiento del intercambio sodio-protón (35, 57, 61, 62). Esta modalidad de transporte transmembrana está presente en todo tipo de célula eucariótica en la cual se ha ensayado, y se la considera un elemento esencial en funciones tales como regulación del pH y volumen celular, en la respuesta celular a hormonas, mitógenos, factores de crecimiento y el transporte transepitelial de sodio y bicarbonato (63, 64). La activación del intercambio transmembrana sodio-protón es considerado requisito para la proliferación celular y crecimiento (65), y una elevada actividad del CT Na/Li (o del intercambio sodio-protón) puede ser un

factor de riesgo para el desarrollo de hipertrofia tisular. En un modelo genético de hipertensión en la rata, en el cual la actividad intercambio sodio-protón es elevada, la hipertrofia orgánica (particularmente cardiaca) precedió al desarrollo de hipertensión (66). Es interesante comentar a este respecto que, entre pacientes portadores de HTA, la hiperactividad heredada del CT Na/Li eritrocitario se ha asociado con la presencia de antecedentes familiares de enfermedades cardiovasculares y renales (67). Del mismo modo, se conoce que el intercambio sodio-protón modula la tasa de reabsorción de sodio a nivel del túbulo proximal renal (68). Weder et al (68) encontraron un aclaramiento de litio disminuido en pacientes con hipertensión esencial, sugiriendo que una tasa de reabsorción renal de sodio elevada sería secundaria a una hiperactividad del intercambio sodio-protón sensible a amiloride en el borde en cepillo de las células tubulares renales. En esta línea, estos autores sugirieron que una hiperactividad de este sistema de transporte transmembrana de sodio, genéticamente determinada, contribuiría de modo significativo a la retención salina en pacientes con hipertensión esencial (68).

5.- El contratransporte sodio-litio y su relación con la nefropatía diabética.

De lo anteriormente expuesto se deduce por un lado que la estrecha relación ND-HTA parece tener una base genética (que nos explica además la afectación preferente de un subgrupo concreto de pacientes diabéticos tipo 1, la agregación familiar de la ND y la relación encontrada entre ND y antecedentes de HTA en los padres), y por otro, que esta predisposición puede tener un marcador fácilmente cuantificable en eritrocitos en sangre periférica tal como el CT Na/Li. Una elevada

actividad de tal sistema expresaría, según los conocimientos actuales, una tendencia heredada a la proliferación celular, a la organomegalia, a la retención hidrosalina y a respuestas exacerbadas por ciertos tipos celulares a sus estímulos naturales.

Dos trabajos aparecidos simultáneamente han mostrado la existencia de una relación entre predisposición genética a la HTA y ND a través de la medición del CT Na/Li eritrocitario. Por un lado, Krolewski et al han determinado la velocidad máxima del CT Na/Li en 33 diabéticos tipo 1 con ND y en 56 diabéticos control sin tal complicación (69). Este estudio, al margen de confirmarnos la importante relación ND-historia familiar de HTA (tener un padre hipertenso triplicó el riesgo de padecer ND, con una odds ratio de 3.7), mostró que los diabéticos con ND presentaban velocidades máximas de CT Na/Li significativamente más elevadas que aquellos pacientes libres de tal complicación (0.51 ± 0.04 vs. 0.38 ± 0.02 mmol/litro celular/hora (medias \pm ES), $p < 0.05$)(69). Por otro lado, Mangili et al midieron la velocidad máxima del CT Na/Li por la misma técnica en 15 pacientes portadores de ND, 13 diabéticos tipo 1 libres de tal complicación ajustados para edad, sexo y duración de diabetes, y 15 pacientes no diabéticos portadores de enfermedad renal con similar grado de disfunción renal que los pacientes portadores de ND (70). Coincidiendo con lo aportado por el grupo anterior, estos autores encontraron una actividad CT Na/Li significativamente más elevada entre los portadores de ND que en aquéllos libres de tal complicación (0.55 ± 0.19 vs. 0.33 ± 0.16 mmol/litro celular/hora; $p < 0.005$) o que en los no diabéticos portadores de enfermedad renal (0.31 ± 0.14 mmol/litro celular/hora; $p < 0.001$)(70). En base a estos estudios parecía claro que la ND se asociaba a valores elevados de CT Na/Li, y que la

disfunción renal per se era incapaz de explicarnos esta elevación. Dada la importante influencia genética en la variabilidad interindividual de la velocidad máxima del CT Na/Li, estos resultados se interpretaron como consistentes con la hipótesis de que una predisposición genética a la HTA, en el contexto clínico de la DMID, favorecía el desarrollo de ND. Es importante destacar que estos dos primeros estudios se realizaron sobre pacientes portadores de nefropatía manifiesta o establecida.

Un importante estudio se realizó posteriormente con el objetivo de determinar la presencia de aspectos genéticos y familiares en la actividad CT Na/Li en el contexto de la ND (71). Walker et al estudiaron la velocidad máxima del CT Na/Li en 40 diabéticos tipo 1 con ambos padres disponibles para estudio: 20 proteinúricos y 20 normoalbuminúricos ajustados para edad, duración de diabetes e índice de masa corporal. Del mismo modo, los 80 padres fueron estudiados. Este estudio confirmó la significativamente mayor actividad CT Na/Li en diabéticos con proteinuria persistente respecto a diabéticos normoalbuminúricos (0.47 (0.39 a 0.54) vs. 0.33 (0.28 a 0.38) mmol/litro celular/hora; medias (95% del intervalo de confianza); $p=0.0036$). Del mismo modo, permitió observar una actividad CT Na/Li media significativamente más elevada en los padres de los proteinúricos que en los padres de los normoalbuminúricos (0.40 (0.32 a 0.48) vs. 0.30 (0.26 a 0.33) mmol/litro celular/hora respectivamente; $p=0.016$), y una débil pero significativa correlación lineal entre actividad CT Na/Li en probando y su correspondiente media de actividades CT Na/Li paterna y materna ($r=0.37$, $p<0.001$). Estos resultados se interpretaron como reforzadores de la hipótesis anteriormente reseñada (71).

Con posterioridad, Jones et al han encontrado una actividad CT Na/Li significativamente mayor en los diabéticos microalbuminúricos que en los normoalbuminúricos (0.43 (95% del intervalo de confianza: 0.38-0.47) vs. 0.29 (0.25-0.33) mmol/litro celular/hora; $p < 0.0001$) (72). El mismo estudio confirma que la presencia de HTA en los padres era significativamente más frecuente en los microalbuminúricos que en los normoalbuminúricos y que existía una correlación lineal significativa entre presión arterial media y actividad CT Na/Li ($r=0.54$, $p < 0.001$) en microalbuminúricos (72). En la misma línea, Carr et al estudiaron 52 diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos y normotensos y encontraron una tasa de filtración glomerular significativamente superior en aquéllos pacientes portadores de una actividad CT Na/Li mayor que el límite superior de actividad CT Na/Li encontrada en los individuos normotensos no diabéticos (73). Con estos datos, quedaba confirmada la asociación de elevada actividad CT Na/Li con ND incipiente, por un lado, y con hiperfiltración glomerular, por otro. Como se expuso anteriormente, ambas alteraciones poseen un notable poder predictivo para ND abierta posterior. Estos estudios destacaban que una elevada velocidad máxima del CT Na/Li tenía ya poder predictivo para el desarrollo de ND abierta en etapas anteriores a la presentación de la misma.

Estos hallazgos se han confirmado por los datos aportados por Ng et al (74), que han medido la actividad intercambio sodio-protón leucocitaria en 19 diabéticos tipo 1 con ND, 15 diabéticos tipo 1 sin ND, 25 controles normales y 17 hipertensos no diabéticos. Según estos autores, el pH intracelular y la capacidad máxima de transporte de este intercambiador de cationes fueron significativamente

superiores en los diabéticos albuminúricos respecto a lo encontrado en los sujetos control y en los diabéticos normoalbuminúricos, y muy similares a lo encontrado en los hipertensos esenciales (74).

Sin embargo, estos resultados no han sido objeto de una confirmación unánime. Jensen et al han evaluado la actividad CT Na/Li en 80 padres de 49 diabéticos tipo 1 con nefropatía abierta, 78 padres de 49 pacientes normoalbuminúricos y en 17 controles no diabéticos ajustados por edad (75). Estos autores no observan diferencias significativas entre los dos grupos de padres en cuanto a presión arterial y actividad CT Na/Li (137/83 vs. 133/81 mmHg y 0.33 vs. 0.32 mmol/litro celular/hora, respectivamente), aunque sí observan actividades CT Na/Li significativamente más elevadas en los diabéticos (albuminúricos o normoalbuminúricos) que en los controles no diabéticos, y una casi significativa elevación en la velocidad máxima del CT Na/Li en los diabéticos nefrópatas respecto a los diabéticos normoalbuminúricos (0.48 vs. 0.41 mmol/litro celular/hora; $p=0.06$) (75). Estos resultados fueron interpretados como inconsistentes con la hipótesis de la predisposición heredada a la HTA como determinante del desarrollo de ND. Los autores sugieren que la elevación de la actividad CT Na/Li es consecuencia del estado diabético per se.

Algo más recientemente, los resultados aportados por Elving et al (76) redundan en lo propuesto por Jensen et al. Estos autores han estudiado la actividad CT Na/Li en 33 diabéticos tipo 1 con ND, 18 diabéticos tipo 1 sin ND y 42 pacientes no diabéticos con varias formas de enfermedad renal, no encontrando

diferencias significativas entre estos tres grupos de estudio. Gall et al (77) han llevado esta discusión al campo de la diabetes no insulino dependiente o tipo 2. Estos autores han determinado la actividad CT Na/Li en 18 varones diabéticos tipo 2 con proteinuria debida a ND (probada en biopsia), 17 varones normoalbuminúricos y 18 controles sanos, encontrando valores similares en los pacientes diabéticos con o sin ND, y valores significativamente disminuidos en los controles frente a los anteriores (66). Las cifras tensionales fueron significativamente superiores en los diabéticos nefrópatas que en los diabéticos normoalbuminúricos y los controles. Estos datos fueron interpretados en contra de una predisposición genética a la HTA como favorecedora del desarrollo de la ND y consistentes con la hipótesis del estado diabético como favorecedor de la elevación de la actividad CT Na/Li.

Esta sonora controversia ha sido objeto de carta al director y correspondiente respuesta (78), sin que se haya aportado una clara solución a la discrepancia planteada entre los distintos grupos de estudio. La cuestión no puede plantearse como superficial en modo alguno. Si una elevada velocidad máxima de este sistema de transporte es considerada como marcador de la predisposición genética a la HTA, y si esta predisposición nos explica el desarrollo preferente de ND por parte de un subgrupo de diabéticos tipo 1, tendremos a disposición un parámetro fácilmente medible que, en las etapas precoces de la historia natural de la DMID, nos indica quienes formarán parte de ese 30-40% de pacientes destinados a desarrollar ND y, por tanto, padecer un acortamiento de la duración total de vida y ser objeto del desarrollo acelerado de la enfermedad aterosclerosa macrovascular. Si los datos anteriores no se confirman, los determinantes del desarrollo de ND en

la población diabética tipo 1 en etapas prenefropáticas permanecerán ocultos, y con ello la capacidad de establecer precozmente el riesgo individual.

6.- Influencias exógenas sobre el contratransporte sodio-litio.

El punto de vista sostenido por los autores que no encuentran que una elevada actividad del CT Na/Li sea un útil predictor del desarrollo de la ND, es que tal actividad, en el contexto de la DMID y más aún en el de la ND, pueda ser objeto de influencias ambientales por parte de las anomalías fisiopatológicas existentes, convirtiendo en un epifenómeno lo que en otros contextos puede ser un marcador genético. Es bien conocido que el contratransporte sodio-litio puede ser objeto de influencias ambientales de diverso signo, como la toma de contraceptivos hormonales, hipopotasemia, embarazo, hormonas tiroideas, factores que influyen la concentración intracelular de calcio, ejercicio, plomo y prednisona (79-86). De interés particular es la relación que tal sistema de transporte pueda guardar con el perfil lipídico. Es lógico plantear que la composición lipídica de la membrana tenga una influencia notable sobre la actividad de un sistema de transporte catiónico transmembrana; nuestro grupo recientemente ha aportado resultados positivos a tal respecto (87). Parece igualmente probada la relación del perfil lipídico plasmático con la composición lipídica de la membrana. El perfil lipídico plasmático muestra una compleja relación con múltiples variables; las circunstancias propias del estado diabético per se añaden un importante factor de complejidad a considerar en esta relación. La aparición de nefropatía diabética incipiente se asocia a una alteración del perfil lipídico plasmático (88). Existen datos sugerentes de una relación entre la

velocidad máxima del CT Na/Li y perfil lipídico plasmático en no diabéticos (89), así como de la posibilidad de modificar la velocidad máxima del transportador que nos ocupa con tratamiento hipolipidemiante (90). Algunos grupos encuentran asociaciones significativas entre velocidad máxima del CT Na/Li y algunos parámetros del perfil lipídico plasmático en diabetes tipo 1 (72, 91, 92). Este conjunto de datos y consideraciones han permitido expresar, como hipótesis contrapuesta a la anteriormente expresada, la posibilidad de que la alteración de la actividad del sistema de transporte transmembranario que nos ocupa sea secundaria a diversas alteraciones del medio interno propias de la nefropatía diabética (93).

OBJETIVOS.

OBJETIVOS.

La presente tesis doctoral se ha realizado con los siguientes objetivos:

1.- Estudiar si la velocidad máxima del CT Na/Li es significativamente diferente en diabéticos tipo 1 en etapa prenefropática respecto a lo observado en controles sanos.

2.- Estudiar la relación velocidad máxima del CT Na/Li con presión arterial en el contexto de la DMID prenefropática. Aspecto que dividimos a su vez en:

2.a.- Estudiar si la presencia de antecedentes familiares de HTA se asocia a mayores valores de velocidad máxima de CT Na/Li en este contexto clínico.

2.b.- Estudiar si existe alguna relación entre velocidad máxima del CT Na/Li y valores de presión arterial en este contexto clínico.

3.- Estudiar la existencia de posibles relaciones de la actividad del transportador que nos ocupa con factores ambientales de importancia en la DMID prenefropática. Particularmente:

3.a.- Estimaciones del ambiente glucémico.

3.b.- Parámetros del perfil lipídico plasmático.



MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL Y METODOS.

1.-PACIENTES.

Hemos estudiado a 54 pacientes diabéticos tipo 1. Las condiciones requeridas para ingresar en el estudio han sido:

a.- Diabetes tipo 1 (insulindependiente) diagnosticada antes de los 30 años de edad, a raíz de cuadro clínico típico con hiperglucemia y cetoacidosis y positividad para anticuerpos antiislole pancreático (ICA). En todos ellos ha sido preciso el empleo de insulina como primera medida terapéutica.

b.- Evolución de la enfermedad inferior a diez años en el momento de estudio.

c.- Ausencia de otra enfermedad significativa o trastorno conocido aparte de la DMID.

e.- Ausencia de tratamiento médico alguno al margen de las medidas habituales en el contexto de una DMID sin complicaciones conocidas.

f.- Consentimiento expreso para la práctica de los estudios adicionales que comportara el protocolo preciso para el presente estudio.

Se estudiaron en total 54 pacientes que reunían las condiciones antes expresadas entre junio de 1992 y agosto de 1993. Todos ellos eran revisados de modo regular en la Unidad de Diabetes del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

2.- PROTOCOLO DE ESTUDIO CLINICO.

Cada uno de los pacientes fue sometido a un estudio clínico extenso. En primer lugar, se sometía a una entrevista detallada donde se recogían aspectos tales como momento del debut de diabetes, evolución global e incidencias, ingresos hospitalarios, dificultades existentes para el control, grado de motivación, bienestar general, síntomas sugerentes de complicaciones específicas, grado de seguimiento de las prescripciones médicas, nutrición y grado de educación diabetológica.

Mención especial reserva la recogida de antecedentes familiares de hipertensión. Se consideró que tales antecedentes eran valorables si tal circunstancia había sido diagnosticada por facultativo en parientes de primer grado antes de los sesenta años, en base a medición reiterada de la presión arterial y precisando por ello medidas dietéticas y/o farmacológicas. En caso de duda, se confirmó el dato en revisiones subsiguientes o bien a través de familiares acompañantes. Del mismo modo cada sujeto de estudio fue interrogado acerca de la presencia de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular establecida. Se consideró valorable la existencia de antecedentes familiares de cardiopatía isquémica ante la presencia en familiares de primer grado de ingreso hospitalario por infarto agudo de miocardio,

de angina de pecho establecida en firme en base a criterios clínicos y de exploración complementaria antes de los 60 años, de muerte súbita no explicada antes de los 60 años o de la necesidad de procedimientos invasivos relacionados, como la cirugía de bypass aortocoronario o la angioplastia transluminal percutánea. Se consideraron los antecedentes familiares de enfermedad cerebrovascular si existía certeza de la presencia, en familiares de primer grado, de accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico antes de los sesenta años, de la existencia de ateromatosis carotídea establecida en base a estudio doppler de troncos supraaórticos, o bien si había sido precisa la cirugía sobre arteria carótida. Se consideraron valorables los antecedentes familiares de enfermedad vascular periférica si existían datos firmes acerca de la necesidad de amputación de extremidad inferior por isquemia crónica en familiares de primer grado, datos concretos acerca de la presencia de claudicación intermitente, o la necesidad de cirugía revascularizadora o de simpatectomía lumbar relacionada con la presencia de isquemia crónica de extremidades inferiores. Se instó a confirmar el dato a aquellos sujetos que expresaron dudas acerca de estas cuestiones, y fueron reinterrogados en revisiones subsiguientes. En numerosas ocasiones la información fue recogida de primera mano, al asistir el familiar portador de enfermedad cardiovascular a revisión como acompañante del probando.

Cada sujeto de estudio fue sometido a una exploración física minuciosa dirigida a detectar complicaciones específicas de la diabetes. En todos ellos se evaluaron pulsos periféricos, existencia o no de limitación de la movilidad articular por métodos clásicos y existencia de lesiones compatibles con distintas formas de

dermopatía diabética, además del examen general. Se midió la presión arterial con el paciente en decúbito supino, tras 5 minutos de reposo, mediante un esfigmomanómetro de columna de mercurio. Se realizaron dos mediciones y se promediaron los resultados. Se calculó la presión arterial media como presión diastólica más un tercio de la presión diferencial. Se calificó de hipertenso a aquéllos que presentaban cifras de presión arterial superiores a 90 mmHg de diastólica y/o 140 mmHg de sistólica. Subdividimos los así clasificados como hipertensos en:

1.- Hipertensión sistólica y diastólica, si la presión arterial sistólica era superior a 160 mmHg y la diastólica superior a 90 mmHg.

2.- Hipertensión sistólica aislada, si la presión arterial sistólica era superior a 160 mmHg, siendo la diastólica inferior a 90 mmHg.

3.- Hipertensión diastólica aislada, si la presión arterial diastólica era superior a 90 mmHg y la sistólica inferior a 160 mmHg.

4.- Hipertensión sistólica límite aislada, si la presión arterial diastólica era inferior a 90 mmHg y la sistólica estaba comprendida entre 140 y 160 mmHg.

Se midió talla y peso del paciente descalzo y con ropas ligeras, calculándose posteriormente el índice de masa corporal como peso en kilogramos dividido entre talla en metros al cuadrado, expresándose tal parámetro como Kg/m^2 . Se calificó como portadores de sobrepeso a aquellos pacientes con un índice de masa corporal superior o igual a 25 e inferior a 30 y como obesos a aquellos pacientes con un índice de masa corporal superior o igual a 30.

Todos los pacientes fueron sometidos a un examen rutinario de fondo de ojo con pupila dilatada según los procedimientos habituales, con objeto de establecer la presencia o ausencia de retinopatía diabética. En diabéticos de más de cinco años de evolución el estudio oftalmológico se completó con la práctica rutinaria de angiofluoresceíngrafía, permitiendo así un estudio más detallado de alteraciones compatibles con retinopatía diabética incipiente. En tabla 2 figuran las medidas estadísticas descriptivas básicas de edad, evolución de diabetes, índice de masa corporal, cifras tensionales, unidades totales de insulina por kilogramo de peso corporal y proporción de insulina rápida respecto al total de la dosis insulínica.

3.- CONTROLES.

Conjuntamente con el grupo de estudio, hemos incluido un grupo de 50 controles sanos, pertenecientes a la plantilla laboral de nuestro hospital. Para ser incluidos en el estudio se exigió el no tomar medicación habitualmente o padecer enfermedad alguna (examen en salud). A todos los individuos integrantes del grupo control se les midió la presión arterial sistólica y diastólica e índice de masa corporal del mismo modo en que se practicó a los pertenecientes al grupo diabético. Igualmente, todos los miembros de este grupo fueron sometidos a un interrogatorio minucioso acerca de la presencia de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular establecida o bien de la presencia de antecedentes familiares de hipertensión arterial, realizando éste del mismo modo en que fue realizado en diabéticos.

En la tabla 3 mostramos las medidas estadísticas correspondientes a las variables clínicas de los individuos integrantes del grupo control.

4.- PROTOCOLO DE ESTUDIO ANALITICO.

Cada componente del grupo diabético fue independientemente citado para extracción de sangre para determinaciones analíticas. Se comprobó que en el momento de la extracción el paciente estuviese libre de síntoma alguno sugerente de complicación intercurrente, mención expresa de cuadros febriles o síntomas propios de descompensación cetoacidótica. La extracción se realizó tras un ayuno de 8 horas y antes de administrarse su dosis matutina de insulina. La extracción se realizó en el laboratorio de absorción atómica del Departamento de Análisis Clínicos del Hospital Universitario "Virgen del Rocío" y las muestras fueron procesadas de modo inmediato, sin requerir transporte alguno a otro lugar. Las variables analíticas determinadas han sido:

a.- Glucemia basal. Determinada por el método de hexoquinasa (Glucoquant^(R) Glucose, Boehringer-Mannheim; valores normales 76-110 mg/dl).

b.- Urea sérica. Determinada por test UV kinético (Urea, Boehringer-Mannheim; valores normales 10-50 mg/dl).

c.- **Creatinina sérica.** Determinada por test enzimático-colorimétrico (Creatinine-PAP, Boehringer-Mannheim; valores normales 0.50-1.10 mg/dl en varones, y 0.50-0.90 mg/dl en mujeres).

d.- **Hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}).** Medida por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (HPLC autoanalyzer, DIC (Menarini); valores normales hasta 5.5%). Con objeto de analizar la influencia del control glucémico a largo plazo sobre la velocidad máxima del CT Na/Li hemos recogido, además del valor de HbA_{1c} correspondiente al momento de la determinación para el sistema de transporte objeto de estudio, dos valores determinados con anterioridad en el plazo de un año (con una separación media de cuatro meses entre determinaciones). La media aritmética de las tres determinaciones ha sido denominada HbA_{1c} media.

e.- **Fructosamina.** Medida por método enzimático-colorimétrico (Fructosamine Test Plus Roche; valores normales hasta 350 μmol/l) (94).

f.- **Colesterol sérico total.** Medido por método enzimático (CHOD-PAP, Boehringer-Mannheim; valores normales 150-250 mg/dl) (95).

g.- **Triglicéridos séricos.** Medidos por método enzimático (GPO-PAP, Boehringer-Mannheim; valores normales 60-160 mg/dl).

h.- **Fosfolípidos séricos.** Medido por método enzimático convencional (valores normales en varones 160-250 mg/dl; en mujeres 160-240 mg/dl).

i.- Colesterol HDL, colesterol HDL₂ y colesterol HDL₃. Medidos por precipitación por adición de polietilenglicol (Quantolip immuno-GMBH, Heidelberg, Alemania; valores normales para el primero 35-50 mg/dl en varones y 39-60 mg/dl en mujeres, para el segundo 6-18 mg/dl en varones y 8-20 mg/dl en mujeres y para el tercero 23-40 mg/dl en varones y 30-45 mg/dl en mujeres).

j.- Colesterol LDL. Estimado de modo indirecto a partir de los parámetros anteriores mediante la expresión descrita por Friedewald et al (96).

k.- Apoproteínas A₁ y B. Determinadas mediante nefelometría láser (valores normales en el primer caso 120-195 mg/dl para varones y 125-205 mg/dl para mujeres; en el segundo caso 90-160 mg/dl para varones y 80-150 mg/dl para mujeres).

l.- Péptido C. Determinado mediante RIA (C-PEP-PR, CIS bio international; valores basales encontrados en 33 sujetos con normotolerancia hidrocarbonada (según criterios de la OMS) (rango): 0.36-1.12 pmol/ml).

En la tabla 4 mostramos las medidas estadísticas descriptivas correspondientes a distintas estimaciones del control glucémico de los individuos integrantes del grupo diabético. En la tabla 5 mostramos las medidas incluidas en el perfil lipídico plasmático de los individuos del mismo grupo.

5.- DETERMINACION DE LA VELOCIDAD MAXIMA DEL CT Na/Li.

La velocidad máxima del CT Na/Li ha sido medida de acuerdo a lo descrito originalmente por Canessa et al (56) con algunas modificaciones, validadas con posterioridad (93, 97). Las muestras procedentes del grupo diabético y las del grupo control se analizaron de modo ciego. Como se ha indicado en páginas anteriores, se realizó extracción de 20 cc de sangre aproximadamente a las 9:00 horas, recogiendo las muestras en tubos recubiertos de heparina-litio. El procesado se realizó por duplicado de modo inmediato a la extracción. El ensayo completo se llevó a cabo en medio a 4°C, salvo la sobrecarga y las medidas de eflujo de litio que se desarrollaron a 37°C. Los eritrocitos fueron separados del resto de constituyentes hemáticos mediante centrifugación a 6000 r.p.m. durante 2' a 4°C. Con posterioridad se aspiró el plasma sobrenadante y la interfase celular. A continuación se llevaron a cabo 4 lavados consecutivos con una solución isosmótica ("solución de lavado") conteniendo Cl_2Mg 115 mM a 4°C y se llevó a cabo centrifugado (6000 r.p.m. 2' a 4°C) y aspiración del sobrenadante tras cada lavado. Posteriormente la masa eritrocitaria fue resuspendida hasta un valor hematócrito aproximado al 20% en una solución de sobrecarga de litio cuya composición era CO_3Li_2 75mM, glucosa 10 mM y MOPS (ácido morfolinpropanosulfónico) 75mM. Los eritrocitos fueron incubados en este medio 60' a 37°C. Posteriormente se repitieron los cuatro lavados consecutivos con solución Cl_2Mg 115 mM según lo descrito más arriba, verificándose centrifugación tras cada lavado según el procedimiento anteriormente expuesto, realizándose tras esta medida aspirado del sobrenadante. Tras la sobrecarga de litio y los cuatro lavados, los eritrocitos fueron

centrifugados de nuevo 2' a 6000 r.p.m. a 4°C, aspirándose el sobrenadante y tomándose alícuota para determinación de litio intracelular (espectrofotometría de absorción atómica, ver posteriormente) y hematócrito. Las concentraciones de litio intracelular variaron entre 5 y 8 mM.

A continuación se tomaron dos alícuotas de 1 cc de masa celular así tratada. La primera fue resuspendida en 5 cc de una solución con ClNa (ClNa 150 mM, glucosa 10 mM, ouabaína 0.1 mM, TRIS-MOPS 10 mM, pH 7.4, osmolaridad 300 ± 5 mOsm/Kg) a 37°C durante 60'. De modo simultáneo, la segunda alícuota de 1 cc se suspendió en 5 cc de una solución isosmolar sin ClNa (Cl₂Mg 75 mM, glucosa 10 mM, ouabaína 0.1 mM, TRIS-MOPS 10 mM, sacarosa 85 mM, pH 7.4, osmolaridad 300 ± 5 mOsm/Kg) a la misma temperatura durante el mismo tiempo.

Posteriormente se volvió a centrifugar según lo expresado anteriormente, separándose el sobrenadante por aspiración. Se practicó medida de la concentración de litio en el sobrenadante de ambas suspensiones eritrocitarias tras centrifugación. Este parámetro fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica (espectrofotómetro de absorción Perkin-Elmer 460) ajustado a una longitud de onda de 670.8 nm. En los casos en que la hemólisis fue apreciable, se corrigió la concentración de litio en el sobrenadante mediante la medición de la hemoglobina en el mismo, cálculo del litio presente en sobrenadante secundario a hemólisis eritrocitaria y resta de la correspondiente concentración de litio.

Se determinó la velocidad máxima de CT Na/Li como la diferencia en la concentración de litio de los sobrenadantes obtenidos tras centrifugar ambas suspensiones. Se asume que a las concentraciones de litio intracelular alcanzadas tras incubación con solución de sobrecarga (ver anteriormente), el sistema de transporte objeto de estudio obra bajo condiciones de saturación, obteniéndose un flujo de litio máximo constante en el tiempo en presencia de la concentración de sodio presente en el primer medio. Se corrigió tal diferencia para el valor hematócrito medido en el volumen celular centrifugado tras sobrecarga de litio y se expresó como mmol/hora/litro celular, según lo descrito en la literatura (56, 93, 97). La velocidad máxima del CT Na/Li medida según lo descrito ha experimentado una variabilidad intraindividual media del 11.72%.

6.- ANALISIS ESTADISTICO.

Para cada variable cuantitativa, se testó la hipótesis de ajuste a una distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Según la distribución de la variable en cuestión, la comparación de medias entre dos grupos se ha testado aplicando la t de Student o el test U de Mann-Whitney. Del mismo modo, para la comparación de medias entre más de dos grupos se ha empleado el análisis de la varianza seguido de la prueba de Neuman-Keuls para comparaciones múltiples, o bien el test de Kruskal-Wallis. La relación entre variables cuantitativas se ha empleado mediante el análisis de regresión lineal y cálculo del coeficiente de regresión lineal de Pearson. Hemos empleado la prueba de la T^2 de Hotelling para comparar el efecto de una variable cualitativa sobre dos vectores de medias. Todos

los contrastes de hipótesis son a dos colas. Se ha considerado un contraste significativo para una $p < 0.05$. Todos estos cálculos se han llevado a cabo con la ayuda de microordenador y los programas de software "EPI INFO" y "RSIGMA". Para cada variable cuantitativa se ofrecen los datos como media \pm desviación típica, a menos que se especifique de otro modo.

RESULTADOS.

RESULTADOS.

1.- ESTADISTICA DESCRIPTIVA: GRUPOS DE ESTUDIO.

1.1.- Grupo diabético.

En la tabla 2 presentamos las medidas estadísticas descriptivas correspondientes a las variables clínicas de los sujetos pertenecientes al grupo diabético. Tal grupo está compuesto de 54 individuos (30 varones y 24 mujeres), con una diabetes tipo 1 de evolución inferior o igual a diez años. Es interesante destacar la presencia de un sólo caso de HTA (concretamente un caso de hipertensión sistólica límite aislada). Hemos encontrado un índice de masa corporal (índice de Quetelet) entre 25 y 30 Kg/m² en 9 casos (16.67%). En ningún caso encontramos un índice de masa corporal superior a 30. Por otro lado es igualmente importante comentar que ningún caso de los incluidos en el estudio tenía retinopatía diabética apreciable con los métodos de estudio utilizados (ver más arriba), signos o síntomas de polineuropatía sensitivomotora o autonómica, microalbuminuria persistente, limitación de la movilidad articular (quiroartropatía o escleredema), o signo o síntoma compatible con enfermedad macrovascular. El grupo de estudio estaba pues compuesto por una población homogénea en cuanto a edad y otras características clínicas, destacando expresamente la ausencia de complicaciones micro o macroangiopáticas o problemas médicos asociados.

Del mismo modo, cabe reseñar que en 18 de los 54 casos de estudio (33.33%) encontramos antecedentes familiares de hipertensión arterial, según lo definido en la sección de material y métodos. Asimismo encontramos en 3 casos (5.56%) antecedentes familiares de cardiopatía isquémica, en 3 casos (5.56%) antecedentes familiares de enfermedad vascular cerebral y en 3 casos (5.56%) antecedentes familiares de enfermedad vascular periférica.

En la tabla 5 mostramos las medidas estadísticas descriptivas acerca de los distintos parámetros correspondientes al perfil lipídico plasmático. Es preciso destacar la presencia de 16 casos con cifras de colesterol total superior a 200 mg/dl (29.63%), como límite de lo deseable, así como de 3 casos con cifras superiores a 250 mg/dl (5.56%), como límite de la normalidad (media+2DS) en población adulta. En 9 casos encontramos una cifra de LDL-colesterol superior a 140 mg/dl (16.67%), y en 3 una cifra superior a 160 mg/dl (5.56%).

En la tabla 4 mostramos las medidas estadísticas descriptivas acerca de los distintos parámetros correspondientes al control glucémico, incluyendo estimaciones de control inmediato (glucemia), a corto (fructosamina), a medio (HbA_{1c}) y largo plazo (HbA_{1c} media).

1.2.- Grupo control.

En la tabla 3 mostramos las medidas estadísticas descriptivas correspondientes a los parámetros clínicos y antropométricos de los individuos

integrantes del grupo control. Como se ha indicado con anteriormente, tal grupo está compuesto por 50 individuos (17 varones y 30 mujeres). Es preciso reseñar que encontramos la presencia de hipertensión arterial en 5 individuos (10%). De ellos, en un caso encontramos hipertensión sistólica y diastólica, en dos casos hipertensión diastólica aislada y en otros dos hipertensión sistólica límite aislada. El índice de masa corporal estuvo comprendido entre 25 y 30 Kg/m² en 12 casos (24%), y fue superior a 30 Kg/m² en 3 casos (6%).

En 20 casos había antecedentes familiares de hipertensión arterial (40%), en 8 casos antecedentes familiares de cardiopatía isquémica (16%), y hubo un caso tanto para antecedentes familiares de enfermedad cerebrovascular como para antecedentes de enfermedad vascular periférica (2%, respectivamente).

1.3.- Comparación entre grupos de estudio.

*La distinta procedencia de los individuos incluidos en ambos grupos de estudio (por un lado procedentes de una unidad especializada en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o insulín-dependiente, y por otro lado procedentes de la plantilla laboral del hospital) tuvo su reflejo fundamentalmente en una diferencia notable en la edad de ambos grupos (23.31±6.61 años para los diabéticos vs. 37.74±8.17 para los controles, *t-Student* $p < 0.001$) (ver tablas 2 y 3). Tal diferencia se acompañó de una casi significativamente mayor proporción de hipertensos en el grupo control (10%, vs. 2% de hipertensos en el grupo diabético, $p < 0.1$) y una diferencia casi significativa en la proporción de obesos (6% en controles vs. 0% en*

diabéticos, $p < 0.1$). La proporción de pacientes portadores de sobrepeso no fue significativamente diferente, pese a ser superior en el grupo control (24% vs. 17%). Estas diferencias cualitativas en el índice de masa corporal se acompañaron de la evidencia de diferencias significativas en tal parámetro entre ambos grupos de estudio ($22.81 \pm 2.3 \text{ Kg/m}^2$ en diabéticos vs. 24.33 ± 3.2 en controles, *t-Student*, $p < 0.05$). En cuanto a la historia familiar de enfermedad cardiovascular e hipertensiva, las diferencias sólo rozaron la significación estadística en la proporción de individuos en cada grupo con historia familiar de cardiopatía isquémica (16% en controles vs. 6% en diabéticos, $p = 0.08$).

La diferencia de edad entre ambos grupos de estudio, y las lógicas diferencias acompañantes en composición corporal y tensión arterial cuestionan seriamente la validez de interpretar la relación CT Na/Li-presión arterial-historia familiar de hipertensión arterial en el grupo diabético en base a lo que suceda en una población control de diferentes características. Para evitar esta importante dificultad, hemos realizado el análisis de la relación anteriormente expresada en el subgrupo de diabéticos de edad superior a 20 años (31 casos) y el subgrupo de controles de edad inferior a 38 años (20 casos). Las características clínicas del primer subgrupo quedan recogidas en la tabla 6, y las del segundo en la tabla 7. Los subgrupos de estudio así definidos no presentan diferencias significativas en edad (27.61 ± 5.85 años en diabéticos vs. 29.15 ± 4.53 años en controles, *t-Student*, no significativo). Es igualmente importante destacar que el test *F* para homogeneidad de distribuciones no ofreció diferencias significativas en la edad de ambas muestras ($F = 1.66$, no significativo). Del mismo modo, no hubo significación

estadística en la diferencia de proporciones de hipertensos (3% en el grupo diabético y 5% en el grupo control), de obesos (0% en el grupo diabético y 5% en el grupo control) y portadores de sobrepeso (23% en el grupo diabético y 15% en el grupo control).

2.- DISTRIBUCION DEL CT Na/Li EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

En la tabla 8 mostramos las medidas estadísticas descriptivas correspondientes a la velocidad máxima del CT Na/Li en diabéticos de edad superior a 20 años y controles de edad inferior a 38. El test de Kolmogorov-Smirnov mostró la bondad de ajuste a la distribución normal de esta variable en ambos grupos de estudio. El test t-Student para comparación de medias no mostró diferencias estadísticamente significativas en la actividad del transportador objeto de estudio entre ambos grupos. La distribución de ambas variables fue homogénea ($F=1.03$, no significativo).

En la tabla 9 mostramos las medidas estadísticas descriptivas correspondientes a la velocidad máxima del CT Na/Li en ambos grupos de estudio, sin restricciones de edad. De nuevo se comprobó la bondad de ajuste a la distribución normal de la variable objeto de estudio en ambos grupos. La actividad CT Na/Li no fue significativamente diferente en ambos grupos (t-Student), como tampoco lo fue la varianza ($F=1.21$, no significativo). En la figura 1 se ilustra la distribución de la actividad del CT Na/Li (frecuencias absolutas) en ambos grupos de estudio. No encontramos diferencias significativas entre las medias de actividad

de CT Na/Li entre el grupo diabético al completo y el subgrupo compuesto por los pacientes de edad superior a 20 años, siendo las distribuciones homogéneas ($F=1.23$, no significativo). Del mismo modo, no encontramos diferencia estadísticamente significativa en la velocidad máxima del CT Na/Li entre el grupo control completo y el subgrupo de controles de edad inferior a 38 años, siendo las distribuciones igualmente homogéneas ($F=1.19$, no significativo).

3.- RELACION DE LA VELOCIDAD MAXIMA DEL CT Na/Li CON VARIABLES CLINICAS.

3.1.- Edad. El análisis de la regresión lineal entre velocidad máxima del CT Na/Li y edad no ha mostrado resultados significativos en ninguno de los dos grupos de estudio ($r=-0.173$ en grupo control y $r=-0.057$ en el grupo diabético). Los resultados individuales para el grupo diabético se muestran en la figura 2.

3.2.- Sexo.

3.2.1.- Grupo control. En el subgrupo de controles de edad inferior a 38 años, se objetivaron diferencias casi significativas en la velocidad máxima del CT Na/Li entre varones y mujeres (0.373 ± 0.091 mmol/l celular/hora en varones vs. 0.29 ± 0.106 mmol/l celular/hora en mujeres; *t-Student*, $p=0.09$). La variable objeto de estudio mostró distribuciones homogéneas en ambos grupos ($F=1.36$, no significativo). Al ampliar el análisis a todo el grupo control tales diferencias adquirieron significación estadística (0.349 ± 0.093 mmol/l celular/hora en varones

vs. 0.272 ± 0.09 mmol/l celular/hora en mujeres; *t-Student*, $p < 0.01$). Del mismo modo, se pudo objetivar la homogeneidad de las distribuciones de la velocidad máxima del CT Na/Li en ambos grupos ($F=1.07$, no significativo).

3.2.2.- Grupo diabético. El análisis restringido al subgrupo de diabetes de edad superior a 20 años mostró la ausencia de diferencias significativas entre ambos sexos (0.3 ± 0.107 mmol/l celular/hora en varones vs. 0.29 ± 0.115 mmol/l celular/hora en mujeres; *t-Student*). Las distribuciones de la velocidad máxima del CT Na/Li en ambos grupos fueron homogéneas ($F=1.14$, no significativo). Al ampliar el análisis a todo el grupo diabético no variaron los resultados (0.286 ± 0.086 mmol/l celular/hora en varones vs. 0.282 ± 0.094 mmol/l celular/hora en mujeres; *t-Student*, no significativo). De nuevo se objetivó la homogeneidad de ambas distribuciones ($F=1.19$, no significativo).

3.2.3.- Consideración del efecto del sexo en ambos grupos. Con objeto de testar la consistencia de los hallazgos anteriores, hemos sometido los datos al análisis de la varianza con clasificación de doble vía (sexo y grupo de estudio). El análisis restringido a diabéticos de edad superior a 20 años y controles de edad inferior a 38 no mostró significación estadística para el sexo, el grupo de estudio, o la interacción de ambos. El análisis sin restricciones de edad mostró una influencia significativa del sexo ($F=4.93$, $p < 0.05$) y de la interacción entre grupo de estudio y sexo ($F=3.95$, $p < 0.05$), aunque no del grupo de estudio aisladamente ($F=2.15$, no significativo).

3.3.- Presión arterial.

3.3.1.- Grupo control. En el subgrupo de controles de edad inferior a 38 años, se pudo apreciar la existencia de correlaciones significativas o casi significativas entre la velocidad máxima del CT Na/Li y presión arterial sistólica ($r=0.562$, $p<0.01$), presión arterial diastólica ($r=0.406$, $p=0.075$) y presión arterial media ($r=0.483$, $p<0.05$). Las nubes de puntos para cada correlación en este grupo se muestran en las figuras 3, 4 y 5. Al estudiar estas correlaciones en el grupo control sin restricciones de edad, se pudo objetivar la persistencia de significación estadística en todas ellas ($r=0.372$ entre CT Na/Li y presión sistólica, $p<0.01$, $r=0.371$ entre CT Na/Li y presión diastólica, $p<0.01$ y $r=0.389$ entre CT Na/Li y presión arterial media, $p<0.01$), si bien el coeficiente de correlación lineal (r) en los tres casos fue algo menor que lo hallado en el análisis restringido. Las nubes de puntos obtenidas en cada caso pueden apreciarse respectivamente en las figuras 6, 7 y 8.

El sexo influyó de modo significativo la cifras tensionales del grupo control. En el subgrupo de controles de edad inferior a 38 años, la presión arterial sistólica fue significativamente mayor en varones que en mujeres (127.85 ± 11.85 mmHg en varones vs. 107.07 ± 16.31 mmHg en mujeres; t -Student, $p<0.01$). La presión arterial sistólica mostró distribuciones homogéneas en ambos grupos de estudio ($F=1.89$, no significativo). Al ampliar el análisis a todo el grupo control, se obtuvieron los mismo resultados (122.64 ± 17.68 mmHg en varones vs. 108.72 ± 15.15 mmHg en mujeres; t -Student, $p<0.01$). Como en el análisis



restringido, la presión arterial sistólica mostró distribuciones homogéneas en ambos grupos ($F=1.36$, no significativo).

*La presión arterial diastólica experimentó un comportamiento muy similar. Tanto en el subgrupo de edad inferior a 38 años (80 ± 10.40 mmHg en varones vs. 66.15 ± 13.86 mmHg en mujeres; *t-Student*, $p < 0.05$), como considerando globalmente a todo el grupo control (78.52 ± 10.11 mmHg en varones vs. 67.27 ± 11.96 mmHg en mujeres; *t-Student*, $p < 0.01$), la presión arterial diastólica fue significativamente mayor en varones. Esta última variable mostró distribuciones homogéneas tanto en el análisis restringido ($F=1.77$, no significativo), como en el extendido ($F=1.39$, no significativo).*

*Las mismas observaciones se recogieron respecto a la presión arterial media en controles. Tanto el análisis restringido a menores de 38 años (95.95 ± 9.94 mmHg en varones vs. 79.79 ± 14.13 mmHg en mujeres; *t-Student*, $p < 0.05$), como el extendido a todo el grupo (93.23 ± 12.05 mmHg en varones vs. 81.09 ± 12.28 mmHg en mujeres; *t-Student*, $p < 0.01$) mostraron valores significativamente más elevados en varones. Esta última variable mostró distribuciones homogéneas tanto en el análisis restringido ($F=2.01$, no significativo), como en el extendido ($F=1.03$, no significativo).*

3.3.2.- Grupo diabético. *En el subgrupo diabético de edad superior a 20 años se han podido objetivar correlaciones con significación estadística o próximas a la misma entre la velocidad máxima del CT Na/Li y presión sistólica*

($r=0.328$, $p=0.071$), presión diastólica ($r=0.361$, $p<0.05$) y presión arterial media ($r=0.386$, $p<0.05$). Los datos individuales pueden observarse, respectivamente, en las figuras 9, 10 y 11. Al considerar las mismas correlaciones en el grupo diabético sin restricciones de edad, podemos observar la disminución del coeficiente de correlación lineal (r) y la pérdida de significación estadística en las correlaciones entre CT Na/Li y presión sistólica ($r=0.174$, no significativa), diastólica ($r=0.156$, no significativa) y media ($r=0.181$, no significativa). Las nubes de puntos obtenidas pueden objetivarse en las figuras 12, 13 y 14.

A diferencia de lo constatado para el grupo control, el sexo no influyó apreciablemente los valores tensionales en el grupo diabético. Tanto en el análisis restringido a mayores de 20 años, como en el ampliado a todo el grupo diabético, no hemos encontrado diferencias significativas en los valores correspondientes a presión arterial sistólica (120 ± 14.81 mmHg en varones vs. 117.08 ± 10.75 en mujeres; análisis restringido) (117.66 ± 14 mmHg en varones vs. 114.79 ± 10.68 mmHg en mujeres; análisis extendido), presión arterial diastólica (70 ± 9.12 mmHg en varones vs. 70 ± 7.38 mmHg en mujeres; análisis restringido) (68.5 ± 9.66 mmHg en varones vs. 67.91 ± 7.79 mmHg en mujeres; análisis extendido) y presión arterial media (86.66 ± 10.22 mmHg en varones vs. 85.69 ± 6.94 mmHg en mujeres; análisis restringido) (84.88 ± 10.3 mmHg en varones vs. 83.54 ± 7.5 mmHg en mujeres; análisis extendido). En todos estos casos las variables respectivas objeto de análisis mostraron distribuciones homogéneas.

3.3.3.- Consideración del efecto del sexo sobre las cifras tensionales en ambos grupos de estudio. Del mismo modo a lo realizado con la velocidad máxima del CT Na/Li, para testar la consistencia de los hallazgos anteriores, sometimos los datos al análisis de la varianza con clasificación de doble vía (sexo y grupo). En un análisis restringido a diabéticos mayores de 20 años y controles menores de 38, encontramos significación estadística en la influencia del sexo ($F=8.01$, $p<0.01$), así como de la interacción entre sexo y grupo ($F=4.55$, $p<0.05$) sobre presión arterial sistólica, aunque no en la influencia del grupo aisladamente. Ampliando el mismo análisis a todo el grupo de estudio sin restricción de edad, encontramos una influencia significativa sobre presión arterial sistólica del sexo ($F=8.31$, $p<0.01$), una influencia casi significativa sobre la misma variable de la interacción entre sexo y grupo ($F=3.59$, $p=0.06$), siendo no significativa la influencia del grupo aisladamente.

Relativo a la presión arterial diastólica, el análisis restringido (ver más arriba) mostró significación de la influencia del sexo ($F=5$, $p<0.05$) y de la interacción entre sexo y grupo ($F=5$, $p<0.05$), aunque no del grupo aisladamente. El análisis ampliado (ver más arriba) mostró de nuevo significación de la influencia del sexo ($F=8.27$, $p<0.01$), del grupo ($F=5.19$, $p<0.05$) y de la interacción de ambos ($F=6.72$, $p<0.05$).

En cuanto a presión arterial media, el análisis restringido mostró significación estadística de la influencia del sexo ($F=7.17$, $p<0.05$) y de la interacción de sexo y grupo ($F=5.63$, $p<0.05$), aunque no del grupo aisladamente.

El análisis ampliado mostró los mismos hallazgos en cuanto a la influencia del sexo ($F=9.62$, $p<0.01$) e interacción entre sexo y grupo ($F=6.16$, $p<0.05$), aunque no para el efecto del grupo de modo aislado.

3.3.4.- Consideración del efecto del sexo sobre la relación del CT Na/Li con los valores de presión arterial en ambos grupos de estudio. Hemos realizado un análisis estratificado por grupos de estudio, con objeto de dilucidar si el sexo influye de modo significativo en la relación de la velocidad máxima del CT Na/Li con los valores tensionales. Para ello hemos utilizado el test T^2 de Hotelling para comparaciones de vectores de medias. De este modo, se ha objetivado que la relación velocidad máxima del CT Na/Li-presión arterial sistólica es significativamente diferente entre varones y mujeres en el grupo control, tanto en un análisis restringido (ver más arriba) ($T^2=8.95$, $F=4.23$, $p<0.05$), como en el ampliado ($T^2=13$, $F=6.36$, $p<0.01$). Los resultados han sido superponibles para la relación CT Na/Li-presión arterial diastólica, tanto en el análisis restringido ($T^2=6.62$, $F=3.12$, $p=0.069$), como en el ampliado ($T^2=15.24$, $F=7.46$, $p<0.01$). Los resultados han sido muy similares para la relación CT Na/Li-presión arterial media, tanto en el análisis restringido ($T^2=7.84$, $F=3.7$, $p<0.05$), como en el ampliado ($T^2=15.10$, $F=7.39$, $p<0.01$).

El análisis de la influencia del sexo sobre la relación CT Na/Li con cifras tensionales en el grupo diabético ha mostrado resultados completamente diferentes. De este modo, la relación CT Na/Li-presión arterial sistólica entre varones y mujeres del grupo diabético no mostró diferencias significativas, tanto en un análisis

restringido ($T^2=0.349$, $F=0.168$), como en el ampliado ($T^2=0.69$, $F=0.338$). La relación CT Na/Li-presión arterial diastólica ha mostrado resultados similares, tanto en el análisis restringido ($T^2=0.063$, $F=0.03$), como en el ampliado ($T^2=0.076$, $F=0.037$). Del mismo modo, la relación CT Na/Li-presión arterial media no ha sido significativamente diferentes entre varones y mujeres del grupo diabético, tanto en el análisis restringido ($T^2=0.101$, $F=0.049$), como en el ampliado ($T^2=0.294$, $F=0.144$).

3.4.- Historia familiar de hipertensión.

3.4.1.- Grupo control. En el subgrupo de controles con edad inferior a 38 años, la presencia o ausencia de antecedentes familiares de hipertensión arterial no estableció diferencias significativas en el valor de la velocidad máxima del CT Na/Li (0.352 ± 0.09 mmol/l celular/hora en aquéllos con antecedentes de hipertensión arterial vs. 0.315 ± 0.111 en aquéllos sin tales antecedentes; test t-Student). Ambas variables tuvieron una distribución homogénea ($F=1.54$, no significativo). Al analizar el grupo de controles sin restricción de edad, encontramos de nuevo la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de controles (0.319 ± 0.084 mmol/l celular/hora en aquéllos con antecedentes familiares de hipertensión arterial vs. 0.288 ± 0.104 mmol/l celular/hora en aquéllos sin tales antecedentes; test t-Student). Igualmente, la variable objeto de estudio en ambas muestras mostró distribuciones homogéneas ($F=1.53$, no significativo).

3.4.2.- Grupo diabético. Al igual que lo sucedido en el grupo de controles, la presencia o ausencia de antecedentes familiares de hipertensión arterial no estableció diferencias en la velocidad máxima del CT Na/Li en el grupo diabético. En el subgrupo de diabéticos de edad superior a 20 años, el test t-Student para comparación de medias no ofreció significación estadística (0.32 ± 0.128 mmol/l celular hora en aquéllos con antecedentes familiares de hipertensión arterial vs. 0.276 ± 0.089 mmol/l celular/hora en aquéllos sin tales antecedentes). La velocidad máxima del CT Na/Li mostró distribuciones homogéneas en ambos grupos de pacientes ($F=2.07$, no significativo). Al ampliar el análisis a todo el grupo diabético, se observaron resultados similares (0.289 ± 0.098 mmol/l celular/hora para aquéllos con antecedentes familiares de hipertensión arterial vs. 0.283 ± 0.085 mmol/l celular/hora en aquéllos sin antecedentes de tal condición; test t-Student, no significativo). La variable objeto de estudio mostró distribuciones homogéneas en ambas muestras ($F=1.32$, no significativo).

3.5.- Índice de masa corporal. Del mismo modo, el análisis de la regresión lineal entre velocidad máxima del CT Na/Li e índice de masa corporal no ha mostrado significación estadística en ninguno de los dos grupos de estudio ($r=0.054$ en controles y $r=0.148$ en diabéticos). La nube de puntos obtenida en el grupo diabético con ambas variables se puede apreciar en la figura 15.

3.6.- Tiempo de evolución de diabetes. El tiempo de evolución de diabetes no se correlacionó de modo significativo con la velocidad máxima del CT Na/Li ($r=0.046$, ver figura 16 para nube de puntos).

3.7.- Dosis insulínica. *La dosis insulínica por kilogramo de peso corporal tampoco tuvo una relación significativa con el transportador objeto de estudio ($r=0.109$, ver figura 17 para nube de puntos obtenida). Encontramos una correlación débil, aunque con significación estadística, entre proporción de insulina rápida en la dosis total y velocidad máxima del CT Na/Li ($r=0.294$, $p < 0.05$, ver nube de puntos obtenida en figura 18). Un grado similar de correlación entre ambas variables se obtuvo al restringir el análisis al grupo de edad superior a 20 años ($r=0.238$) y al eliminar del análisis a aquéllos tratados exclusivamente con insulina retardada ($r=0.257$), perdiendo en ambos casos la significación estadística, en parte por la debilidad de la correlación y en parte por la amputación sustancial en el número de casos incluidos en el análisis.*

3.8.- Otras variables de interés.

Fue también objetivo del presente estudio ver qué modalidad de afección cardiovascular en la familia guardaba una mayor relación con la velocidad máxima del CT Na/Li en el probando. El escaso número de pacientes con historia familiar de cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y/o enfermedad vascular periférica imposibilitó dar una respuesta adecuada a tales interrogantes. Tal número fue igualmente escaso en controles. Igualmente, el hecho de estar el presente estudio dirigido a diabetes tipo 1 de evolución inferior o igual a diez años limitó por completo nuestra capacidad de apreciar alguna relación entre velocidad máxima del CT Na/Li y las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus.

4.- RELACION DE LA VELOCIDAD MAXIMA DEL CT Na/Li CON VARIABLES ANALITICAS.

Como hemos expresado anteriormente, el estudio de la relación de la actividad del transportador que nos ocupa con distintas variables analíticas sólo se realizó en el grupo diabético.

4.1.- Variables relacionadas con el control glucémico.

4.1.a.- Glucemia. *La correlación entre velocidad máxima del CT Na/Li y la glucemia (basal) presente en el momento de la determinación del primer parámetro ha mostrado un coeficiente de correlación lineal (r) de -0.174 . El análisis de la varianza para la regresión lineal no mostró significación estadística. La nube de puntos obtenida se muestra en la figura 19.*

4.1.b.- Fructosamina. *De modo similar a lo hallado con el control inmediato de la diabetes, el control a corto plazo, representado por la cifra de fructosamina sérica, no mostró una correlación significativa con la velocidad máxima del CT Na/Li ($r=-0.071$). Los datos individuales se muestran en la figura 20.*

4.1.c.- Hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}). *El parámetro más representativo del control glucémico a medio plazo, la hemoglobina glicosilada, tampoco mostró una correlación significativa con la actividad del transportador*

objeto de estudio ($r=0.08$). La nube de puntos encontrada se muestra en la figura 21.

4.1.d.- Hemoglobina glicosilada media. El control glucémico durante el año precedente al estudio (ver material y métodos), representado por la media aritmética de tres valores de HbA_{1c} , no mostró una correlación significativa con la velocidad máxima del transportador que nos ocupa ($r=0.061$). La gráfica que muestra los datos individuales se muestra en la figura 22.

4.2.- Variables relacionadas con el perfil lipídico plasmático.

4.2.a.- Colesterol total. No se ha encontrado una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y los valores de colesterol sérico total ($r=-0.025$). La nube de puntos obtenida se muestra en la figura 23.

4.2.b.- Colesterol HDL. La correlación obtenida entre los valores de la actividad del transportador objeto de estudio y el colesterol HDL no ha mostrado significación estadística ($r=-0.174$). Los valores individuales se muestran en la figura 24.

4.2.c.- Colesterol HDL₂. Tampoco fue significativa la correlación encontrada entre velocidad máxima del CT Na/Li y colesterol HDL₂ ($r=-0.08$), aunque este parámetro sólo fue determinado en 26 pacientes del total. La nube de puntos obtenida se muestra en la figura 25.

4.2.d.- Colesterol HDL₃. La correlación lineal entre la actividad del transportador que nos ocupa y este último parámetro lipídico no ha sido significativa ($r=-0.136$). Del mismo modo a lo ocurrido con el parámetro anterior, esta última variable sólo fue determinada a 26 pacientes. La gráfica con los valores individuales se muestra en la figura 26.

4.2.e.- Colesterol LDL. No se ha encontrado significación estadística en la correlación entre actividad del CT Na/Li y esta última variable ($r=0.055$). Mostramos los datos individuales en la figura 27.

4.2.f.- Fosfolípidos séricos. Tampoco encontramos significación estadística en la correlación entre velocidad máxima del CT Na/Li y cifra de fosfolípidos séricos ($r=0.016$). La nube de puntos obtenida se muestra en la figura 28.

4.2.g.- Triglicéridos séricos. La correlación encontrada entre valor correspondiente a los triglicéridos séricos y actividad del transportador que nos ocupa no ha mostrado significación estadística ($r=0.097$). Mostramos la nube de puntos obtenida en la figura 29.

4.2.h.- Apoproteína A₁. Tampoco se ha mostrado una correlación significativa entre CT Na/Li y esta última variable ($r=0.0039$). La gráfica con los valores individuales se muestra en la figura 30.

4.2.i.- Apoproteína B. Los niveles séricos de esta variable no han mostrado una correlación significativa con la velocidad máxima del transportador objeto de estudio ($r=0.112$). Mostramos los datos individuales en la figura 31.

4.3.- Variables relacionadas con la reserva insular.

Como índice de la reserva insular en el grupo diabético se han elegido los niveles séricos de péptido C. Tal parámetro no mostró correlación significativa alguna con la velocidad máxima del transportador que nos ocupa ($r=0.103$, ver figura 32 para datos individuales).

4.4.- Variables relacionadas con el metabolismo de los cetoácidos.

Como indicador de descompensación metabólica en este sentido se han determinado los niveles séricos de β -hidroxibutirato. Tal variable analítica no mostró una correlación significativa con la velocidad máxima del transportador objeto de estudio ($r=-0.051$). Mostramos los datos individuales en la figura 33.

TABLAS Y FIGURAS.

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> <i>(95%)</i>
<i>edad (años)</i>	23.31	6.61	14.1	42.2	28.1	(21.55, 25.07)
<i>evolución (meses)</i>	41.96	34.02	1	120	119	(32.88, 51.03)
<i>IMC (Kg/m²)</i>	22.81	2.3	17.7	28.4	10.7	(22.2, 23.42)
<i>PAS (mmHg)</i>	116.38	12.6	90	150	60	(113.02, 119.75)
<i>PAD (mmHg)</i>	68.24	8.8	50	85	35	(65.89, 70.58)
<i>PAM (mmHg)</i>	84.29	9.1	63.33	106.67	43.34	(81.86, 86.72)
<i>insulina/Kg de</i> <i>peso corporal</i>	0.57	0.22	0.023	0.966	0.942	(0.511, 0.633)
<i>% de insulina</i> <i>rápida respecto</i> <i>al total</i>	22.5	17	0	65.3	65.3	(17.97, 27.04)

Tabla 2.- Estadística descriptiva para las principales variables clínicas en el grupo de diabetes tipo 1. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza. IMC: índice de masa corporal. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. PAM: presión arterial media.

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> (95%)
<i>edad (años)</i>	37.74	8.17	22	53	31	(35.47, 40)
<i>IMC (Kg/m²)</i>	24.33	3.2	19.5	31.9	12.4	(23.33, 25.32)
<i>PAS (mmHg)</i>	113.46	17.21	85	160	75	(108.68, 118.23)
<i>PAD (mmHg)</i>	71.1	12.48	50	100	50	(67.63, 74.56)
<i>PAM (mmHg)</i>	85.21	13.4	61.67	120	58.33	(81.5, 88.93)

Tabla 3.- Estadística descriptiva para las principales variables clínicas en el grupo control. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza. IMC: índice de masa corporal. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. PAM: presión arterial media.

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> (95%)
<i>glucemia basal (mg/dl)</i>	178.67	83.53	45	359	314	(156.18, 201.16)
<i>HbA_{1c} (%)</i>	7.6	1.88	4.2	11.6	7.4	(7.1, 8.1)
<i>HbA_{1c} media (%)</i>	7.8	1.75	4.6	12.5	7.9	(7.31, 8.28)
<i>fructosamina (μmol/l)</i>	352.31	88.63	116	645	529	(328.67, 375.95)

Tabla 4.- Estadística descriptiva para las principales variables analíticas relacionadas con el control glucémico en el grupo de diabetes tipo 1. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> <i>(95%)</i>
<i>colesterol total</i>	176.27	36.12	96	273	177	(166.64, 185.91)
<i>colesterol HDL</i>	53.03	15.7	7	98	91	(48.72, 57.34)
<i>colesterol LDL</i>	107.33	31.68	50	192	142	(98.63, 116.02)
<i>triglicéridos</i>	78.92	39.7	34	212	178	(68.33, 89.51)
<i>fosfolípidos</i>	184.52	38.79	116	270	154	(173.88, 195.17)
<i>apoproteína A₁</i>	150.84	27.92	35	221	186	(143.25, 158.43)
<i>apoproteína B</i>	93.09	27.71	41	178	137	(85.49, 100.7)
<i>HDL₂ (*)</i>	11.19	7.17	3	34	31	(8.43, 13.95)
<i>HDL₃ (*)</i>	39.76	14.26	3	88	85	(34.28, 45.25)

Tabla 5.- Estadística descriptiva para las principales variables analíticas correspondientes al perfil lipídico plasmático en el grupo de diabetes tipo 1. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza. (): determinaciones efectuadas sólo en 26 pacientes. Todas las determinaciones están expresadas en mg/dl.*

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> <i>(95%)</i>
<i>edad (años)</i>	27.61	5.85	20.2	42.2	22	(25.55, 29.67)
<i>evolución (meses)</i>	35.03	32.28	1	117	116	(23.66, 46.39)
<i>IMC (Kg/m²)</i>	23.26	2.5	17.7	28.4	10.7	(22.38, 24.14)
<i>PAS (mmHg)</i>	118.87	13.27	90	150	60	(114.19, 123.54)
<i>PAD (mmHg)</i>	70	8.36	60	85	25	(67.05, 72.94)
<i>PAM (mmHg)</i>	86.29	8.98	70	106.67	36.67	(83.12, 89.45)
<i>insulina/Kg de</i> <i>peso corporal</i>	0.47	0.2	0.023	0.882	0.858	(0.4, 0.55)
<i>% de insulina</i> <i>rápida respecto</i> <i>al total</i>	18.57	18.75	0	65.38	65.38	(11.96, 25.17)

Tabla 6.- Estadística descriptiva para las principales variables clínicas en el grupo de diabetes tipo 1 y edad superior a 20 años. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza. IMC: índice de masa corporal. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. PAM: presión arterial media.

	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> <i>(95%)</i>
<i>edad (años)</i>	29.15	4.53	22	37	15	(27.16, 31.13)
<i>IMC (Kg/m²)</i>	23.57	4.1	19.5	31.9	12.4	(21.42, 25.73)
<i>PAS (mmHg)</i>	114.35	17.77	85	140	55	(106.56, 122.13)
<i>PAD (mmHg)</i>	71	14.19	50	100	50	(64.77, 77.22)
<i>PAM (mmHg)</i>	85.45	14.82	61.67	113.33	51.66	(78.95, 91.95)

Tabla 7.- Estadística descriptiva para las principales variables clínicas en el grupo control de edad inferior a 38 años. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza. IMC: índice de masa corporal. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. PAM: presión arterial media.

<i>Grupo de estudio</i>	<i>media</i>	<i>DS</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>rango</i>	<i>IC para la media</i> <i>(95%)</i>
<i>Diabetes</i>	0.296	0.109	0.15	0.561	0.411	(0.257, 0.334)
<i>Control</i>	0.319	0.107	0.174	0.509	0.335	(0.272, 0.366)

Tabla 8.- Estadística descriptiva para la velocidad máxima del CT Na/Li (mmol/l celular/hora) en el grupo control de edad inferior a 38 años y el grupo diabético de edad superior a 20. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

Grupo de estudio	media	DS	mínimo	máximo	rango	IC para la media (95%)
Diabetes	0.284	0.089	0.15	0.561	0.411	(0.260, 0.308)
Control	0.298	0.097	0.122	0.535	0.413	(0.271, 0.325)

Tabla 9.- Estadística descriptiva para la velocidad máxima del CT Na/Li (mmol/l celular/hora) en ambos grupos de estudio. DS: Desviación estándar. IC: intervalo de confianza.

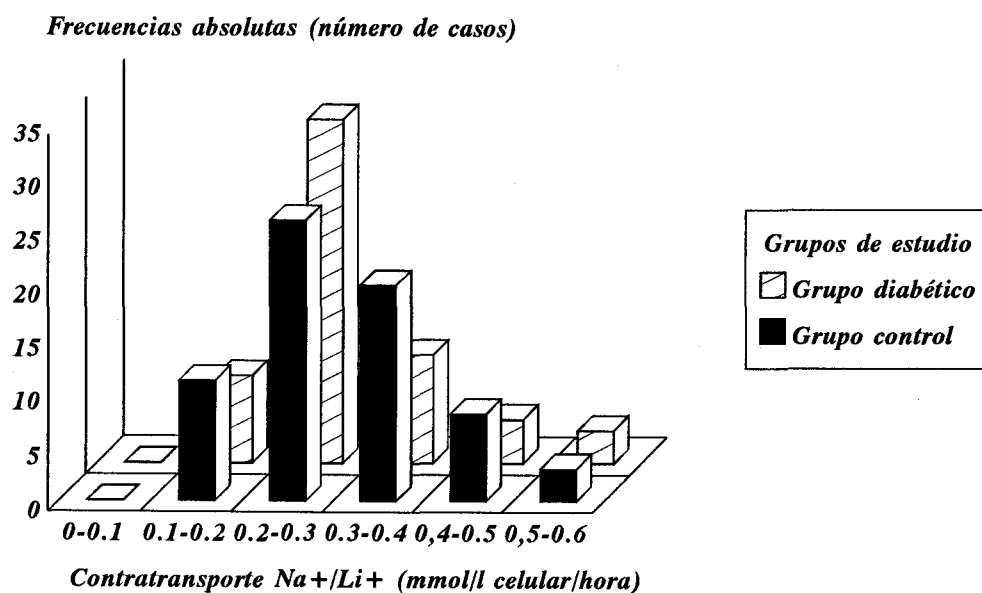


Figura 1.- Distribución de la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ en los grupos diabético y control.

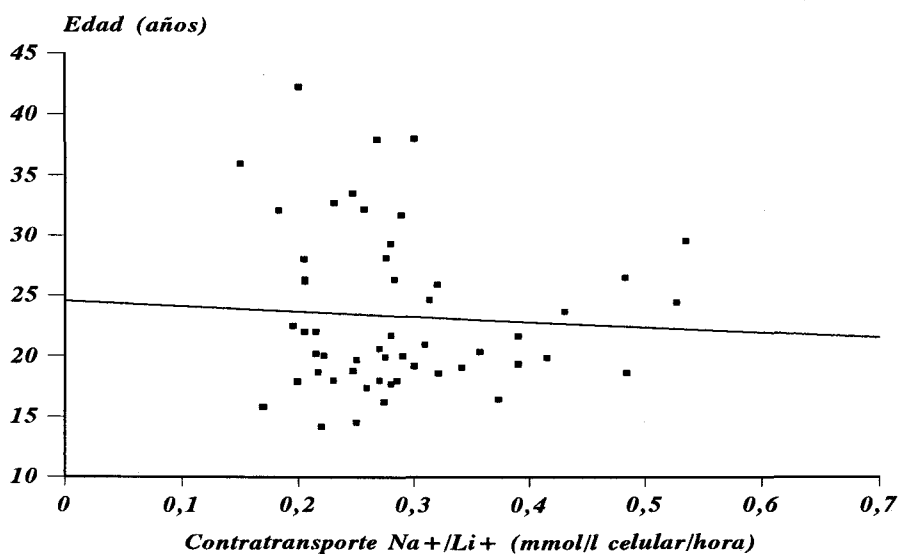


Figura 2.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y edad en el grupo diabético ($r=-0.057$, no significativo).

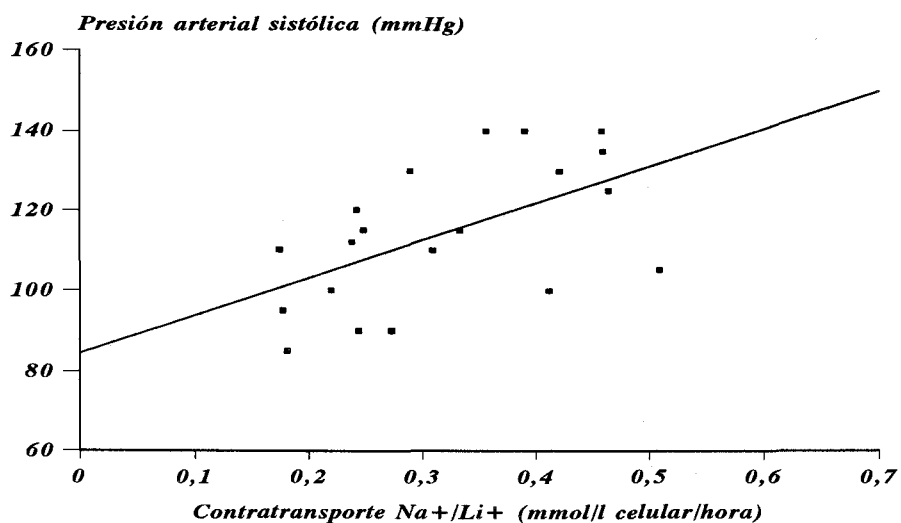


Figura 3.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y la presión arterial sistólica en el grupo control de edad inferior a 38 años. El análisis de la varianza para la regresión lineal mostró significación estadística ($r=0.562$, $p<0.01$).

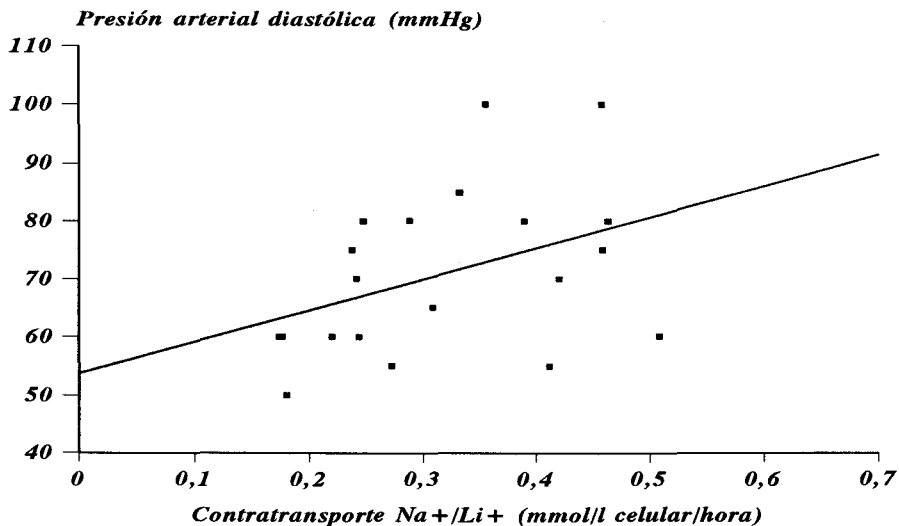


Figura 4.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial diastólica en el grupo control de edad inferior a 38 años. El análisis de la varianza para la regresión casi mostró significación estadística ($r=0.406$, $p=0.075$)

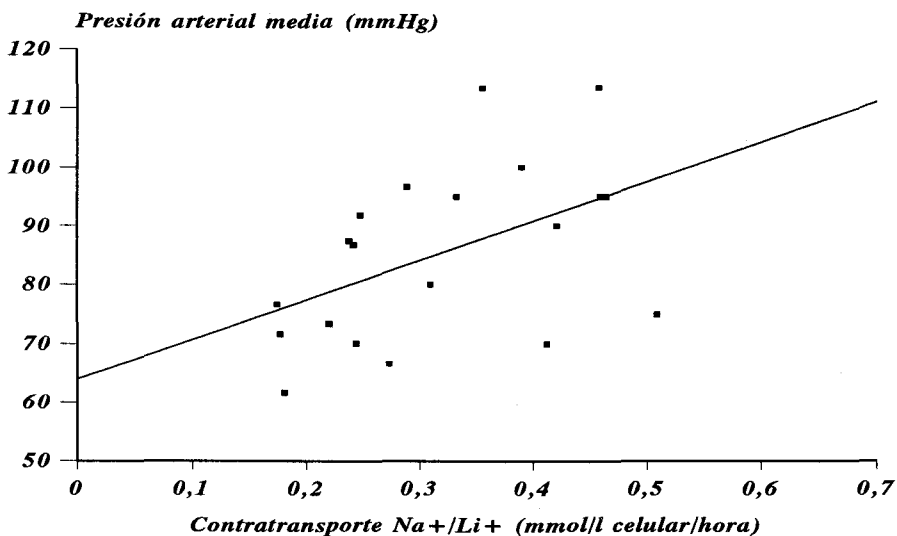


Figura 5.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial media en el grupo control de edad inferior a 38 años. El análisis de la varianza para la regresión mostró significación estadística ($r=0.483$, $p<0.05$).

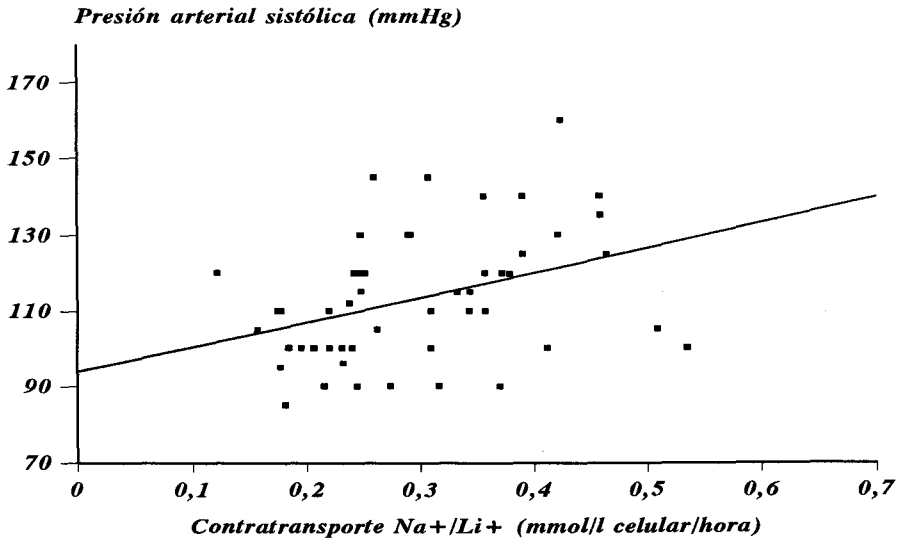


Figura 6.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial sistólica en el grupo control. El análisis de la varianza para la regresión lineal mostró significación estadística ($r=0.372$, $p<0.01$).

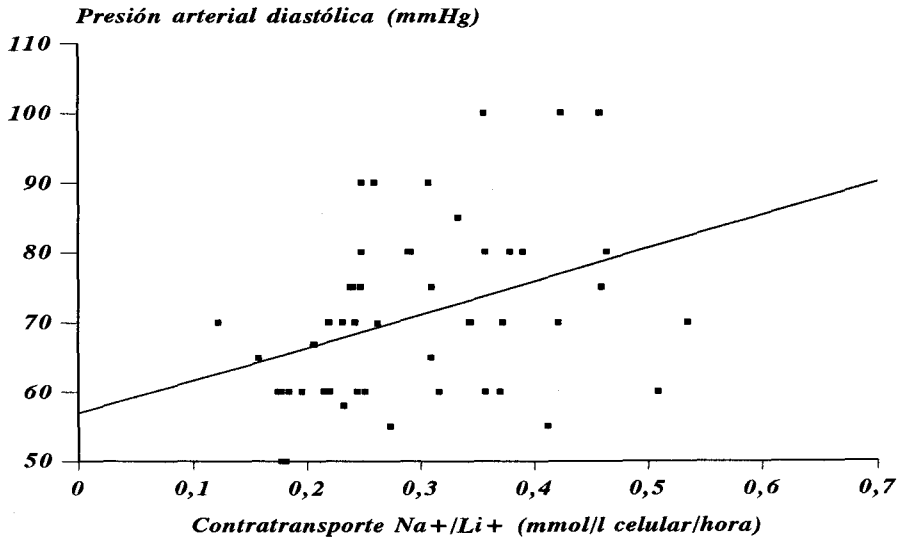


Figura 7.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial diastólica en el grupo control. El análisis de la varianza para la regresión lineal mostró significación estadística ($r=0.371$, $p<0.01$).



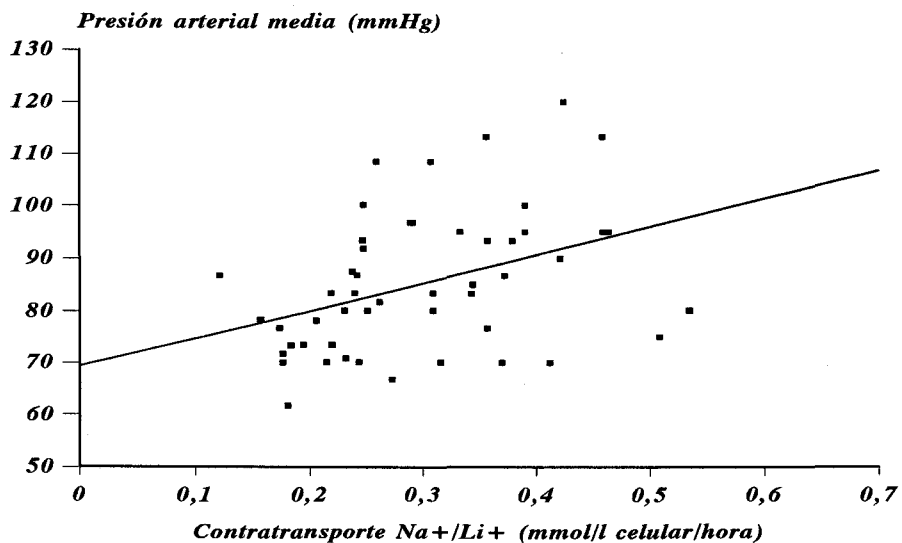


Figura 8.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial media en el grupo control. El análisis de la varianza para la regresión lineal mostró significación estadística ($r=0.389$, $p<0.01$).

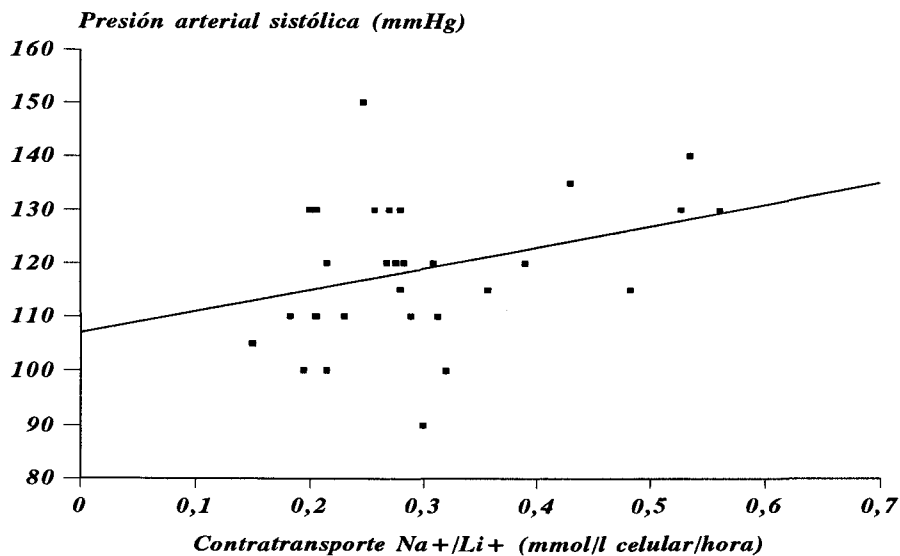


Figura 9.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial sistólica en el grupo diabético de edad superior a 20 años ($r=0.328$, $p=0.07$).

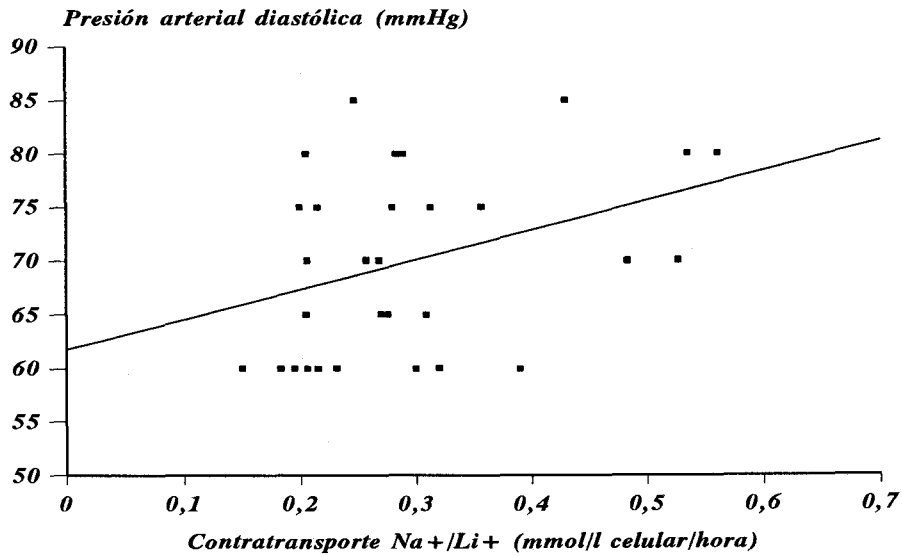


Figura 10.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y la presión arterial diastólica en el grupo diabético de edad superior a 20 años ($r=0.361$, $p<0.05$).

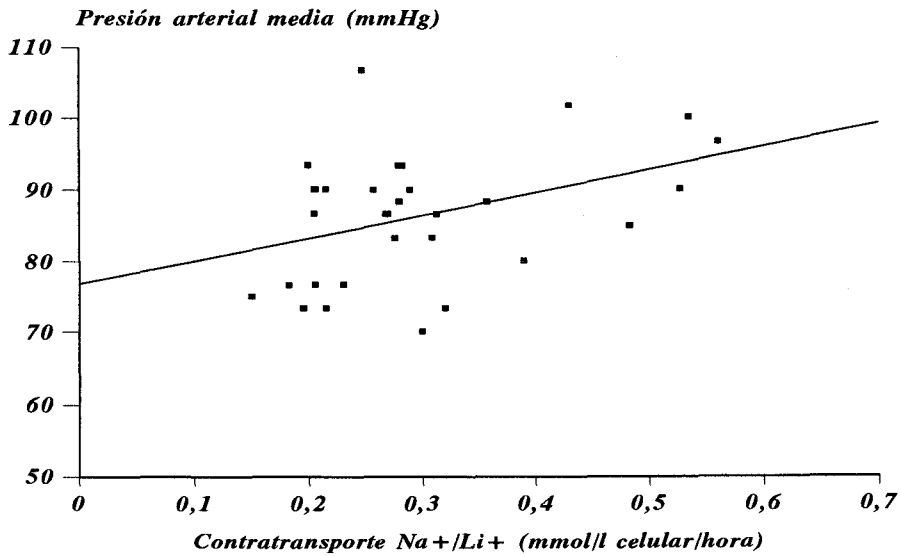


Figura 11.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y la presión arterial media en el grupo diabético de edad superior a 20 años ($r=0.386$, $p<0.05$).

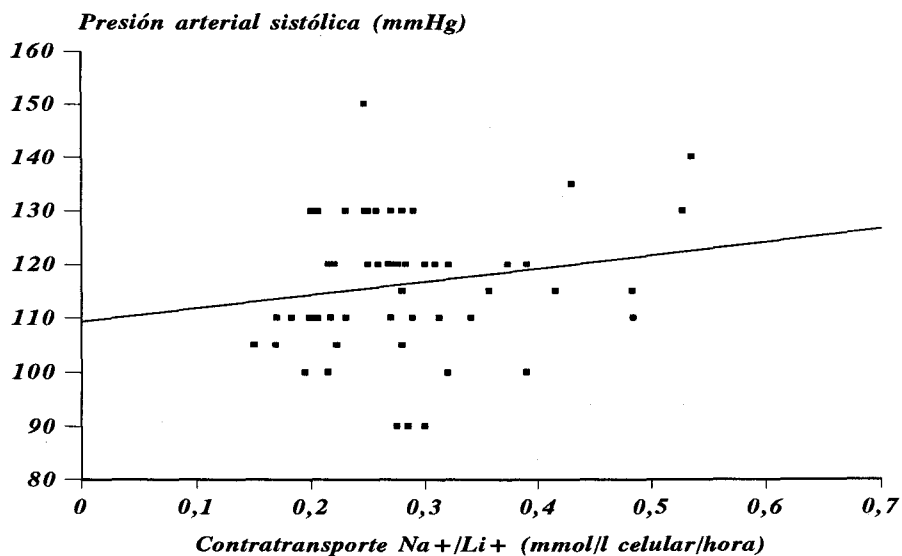


Figura 12.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial sistólica en el grupo diabético ($r=0.174$, no significativo).

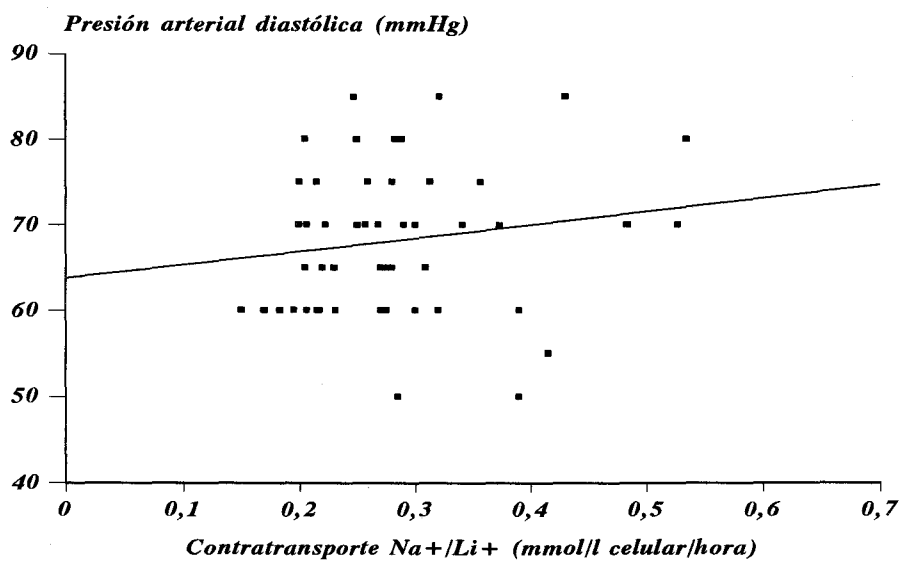


Figura 13.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial diastólica en el grupo diabético ($r=0.156$, no significativo).

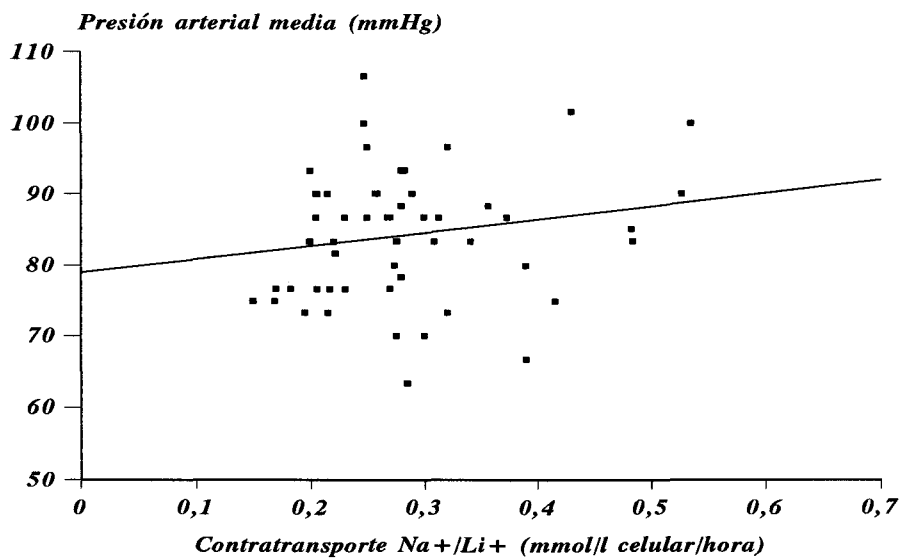


Figura 14.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la presión arterial media en el grupo diabético ($r=0.181$, no significativo).

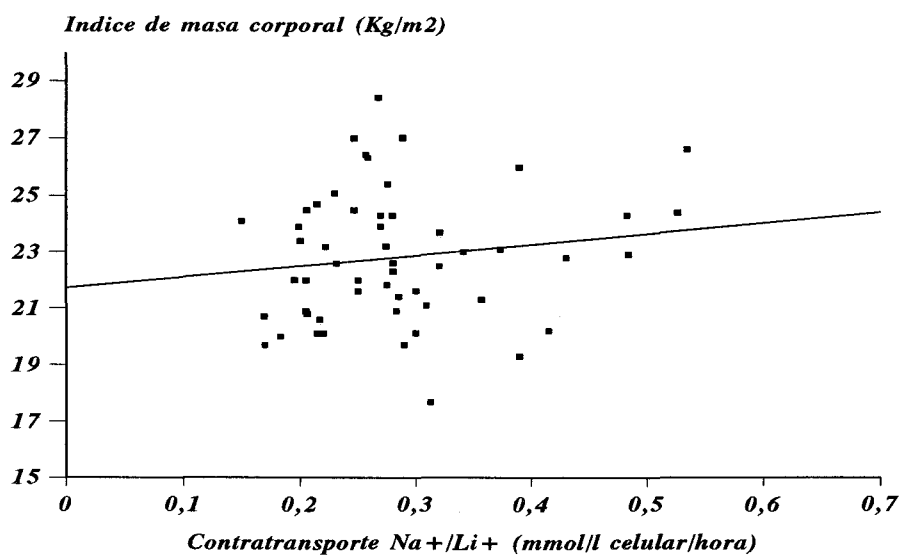


Figura 15.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ e índice de masa corporal en el grupo diabético ($r=0.148$, no significativo).

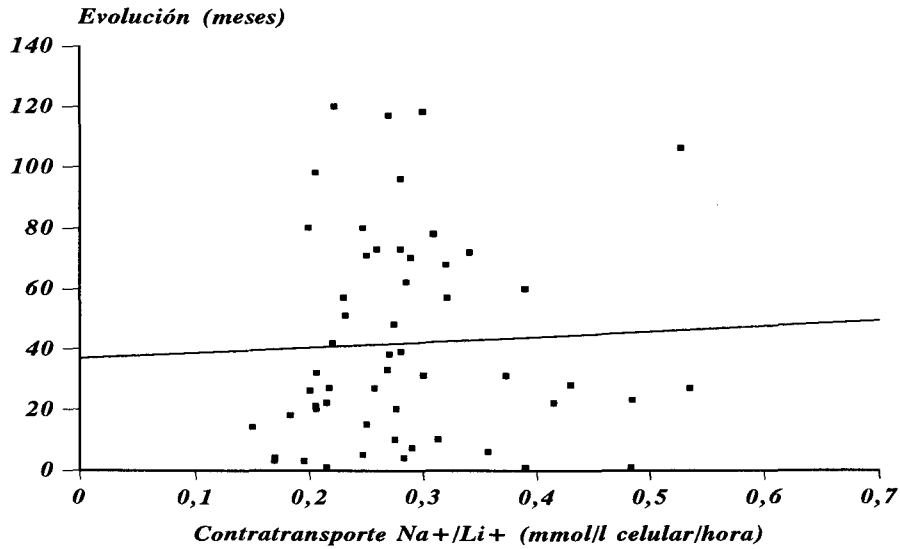


Figura 16.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y evolución en el grupo diabético ($r=0.046$, no significativo).

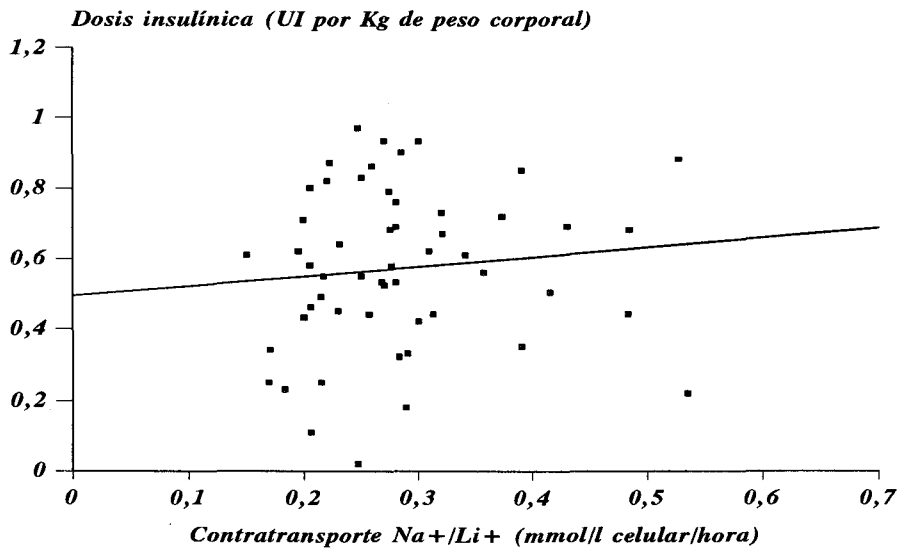


Figura 17.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y dosis insulínica en el grupo diabético ($r=0.108$, no significativo).

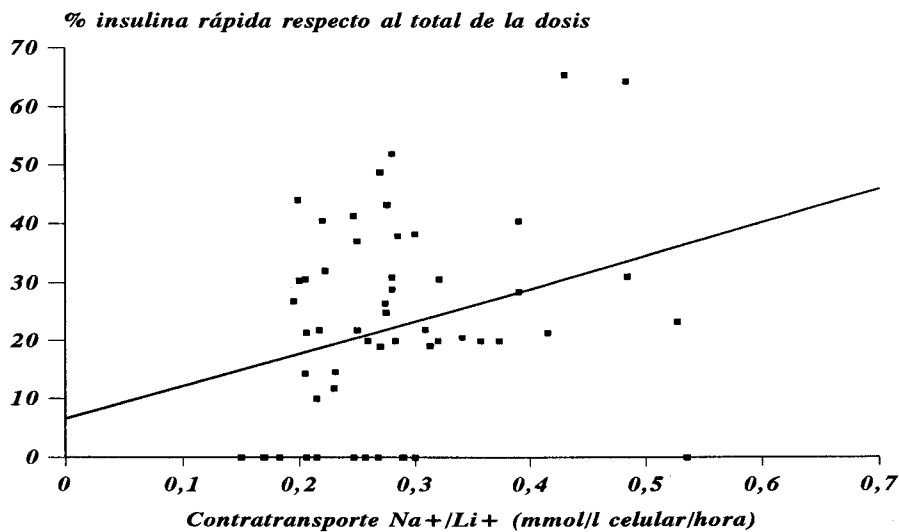


Figura 18.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y la proporción de insulina rápida respecto al total de la dosis. El análisis de la regresión lineal mostró significación estadística ($r=0.294$, $p<0.05$).

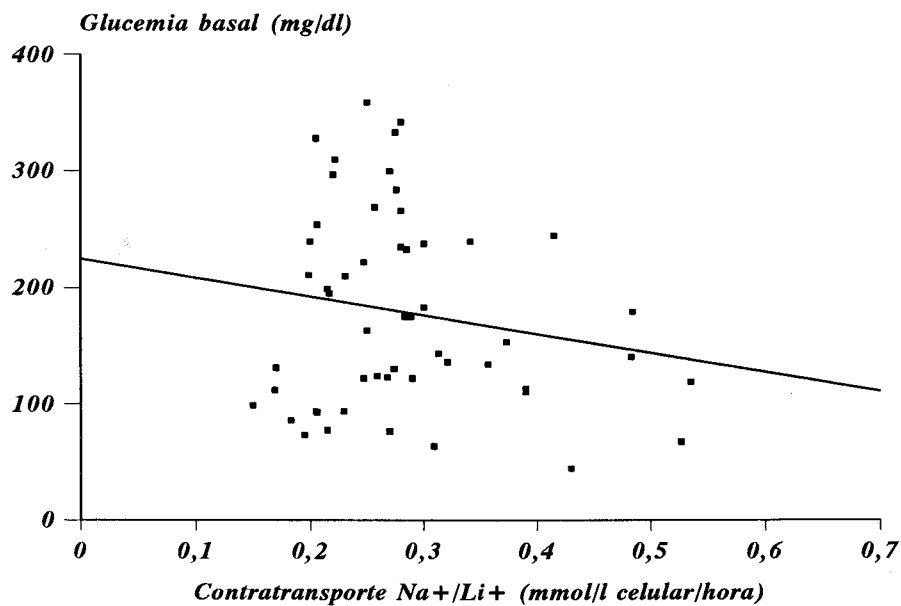


Figura 19.- Correlación entre contratransporte Na^+/Li^+ y glucemia basal en el grupo diabético ($r=-0.174$, no significativo).

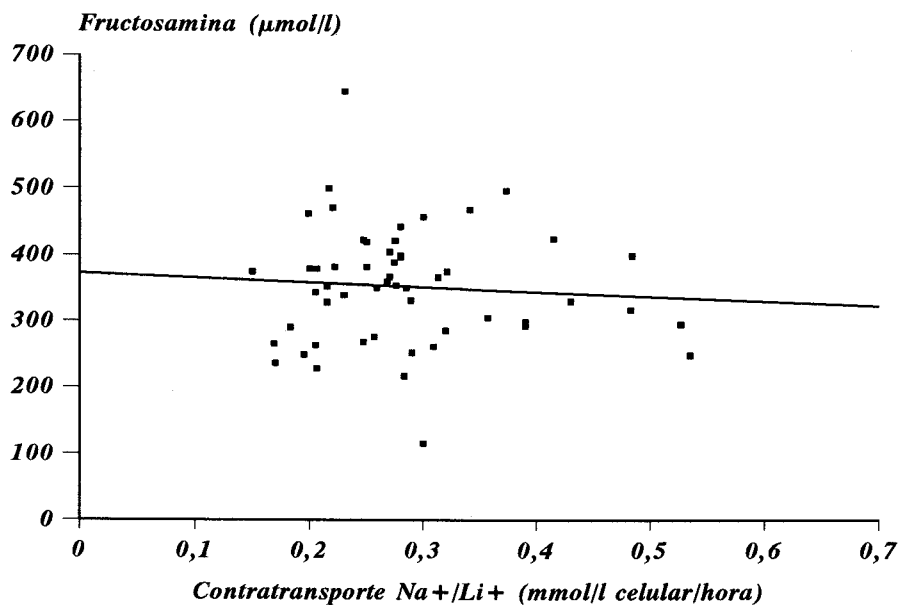


Figura 20.- Correlación entre contratransporte Na^+/Li^+ y fructosamina en el grupo diabético ($r=-0.071$, no significativo).

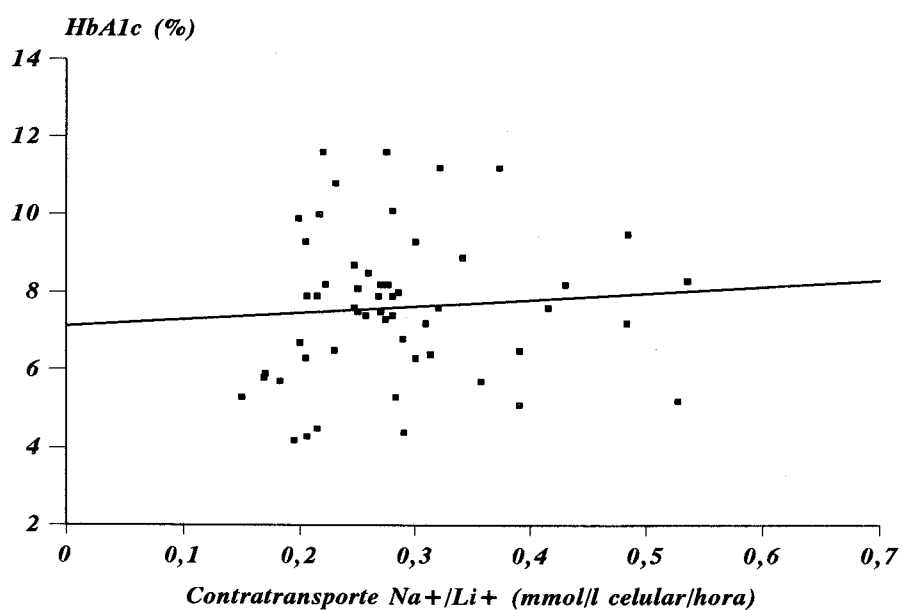


Figura 21.- Correlación entre contratransporte Na^+/Li^+ y HbA1c en el grupo diabético ($r=0.08$, no significativo).

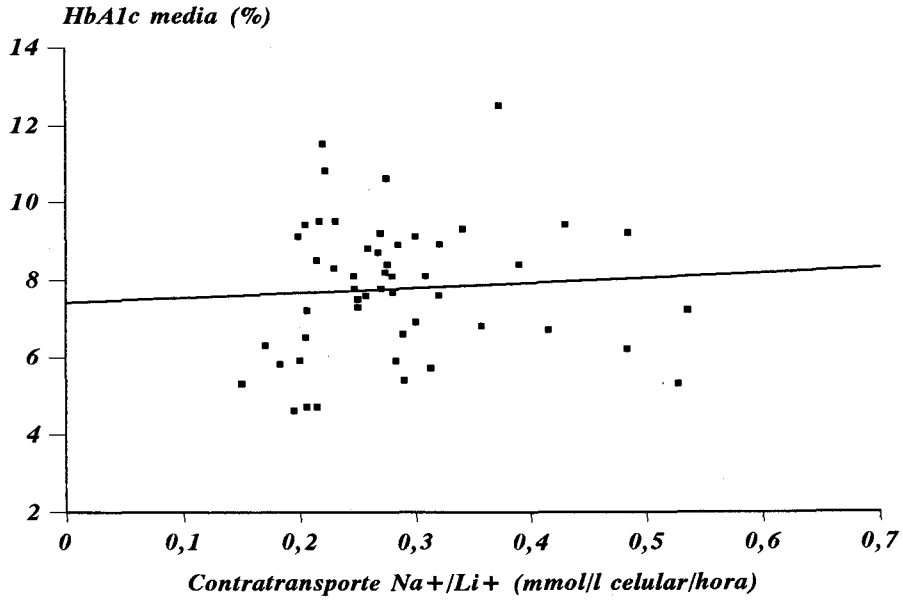


Figura 22.- Correlación entre contratransporte Na⁺/Li⁺ y HbA1c media en el grupo diabético ($r=0.064$, no significativo).

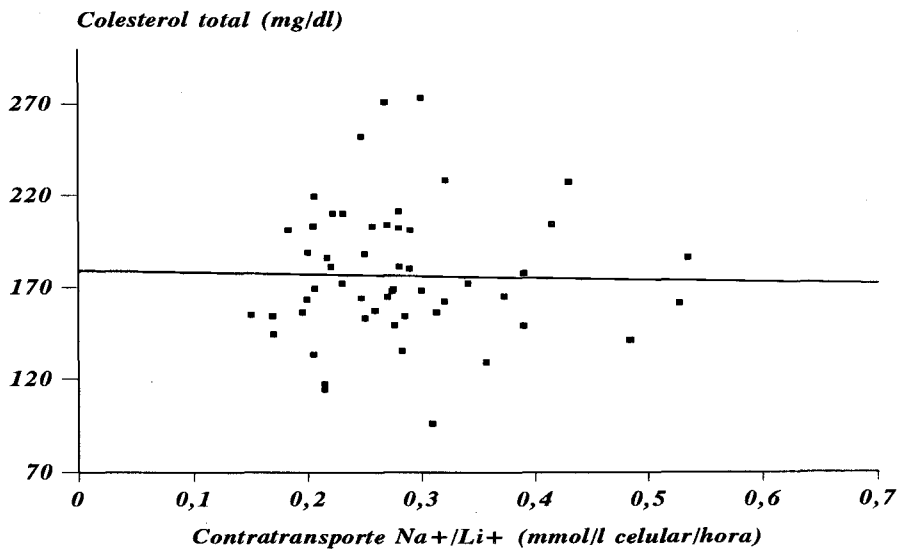


Figura 23.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y colesterol total en el grupo diabético ($r=-0.025$, no significativo).

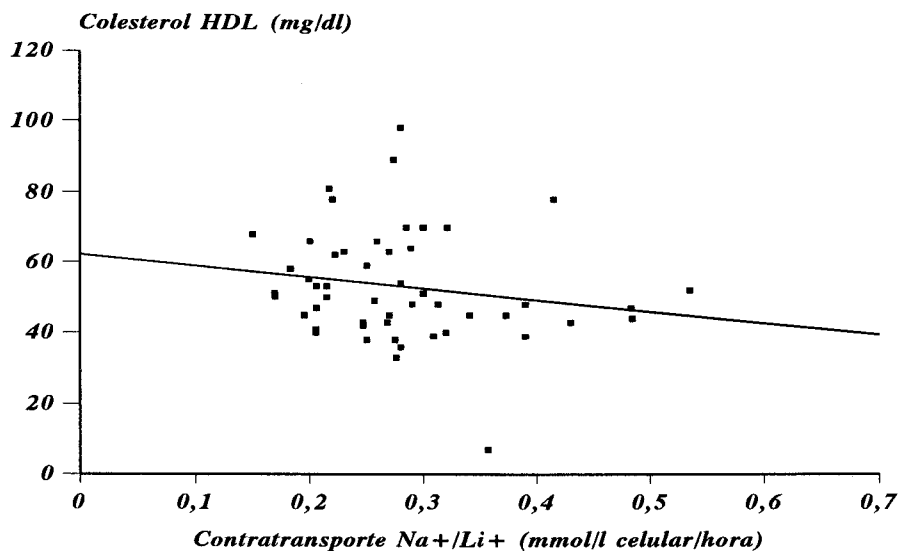


Figura 24.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y colesterol HDL en el grupo diabético ($r=-0.174$, no significativo).

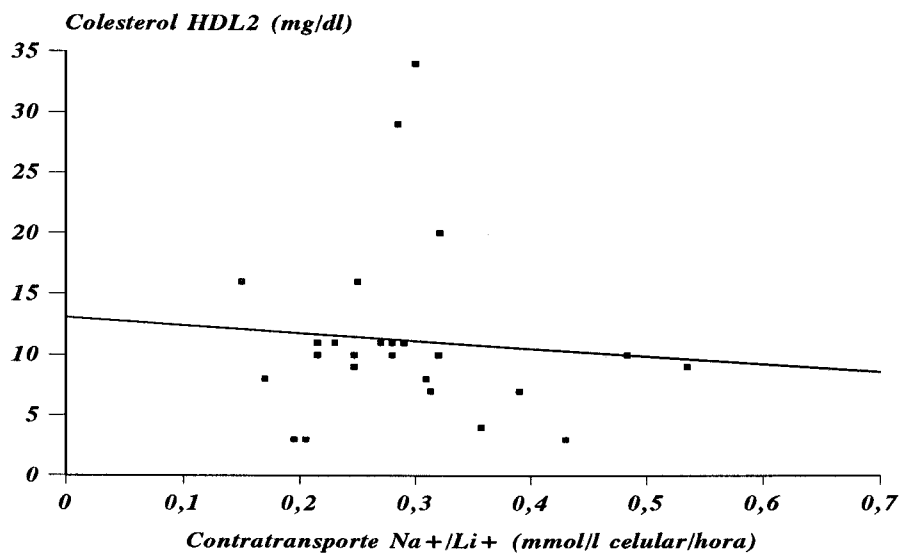


Figura 25.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na^+/Li^+ y colesterol HDL2 en el grupo diabético ($r=-0.08$, no significativo).

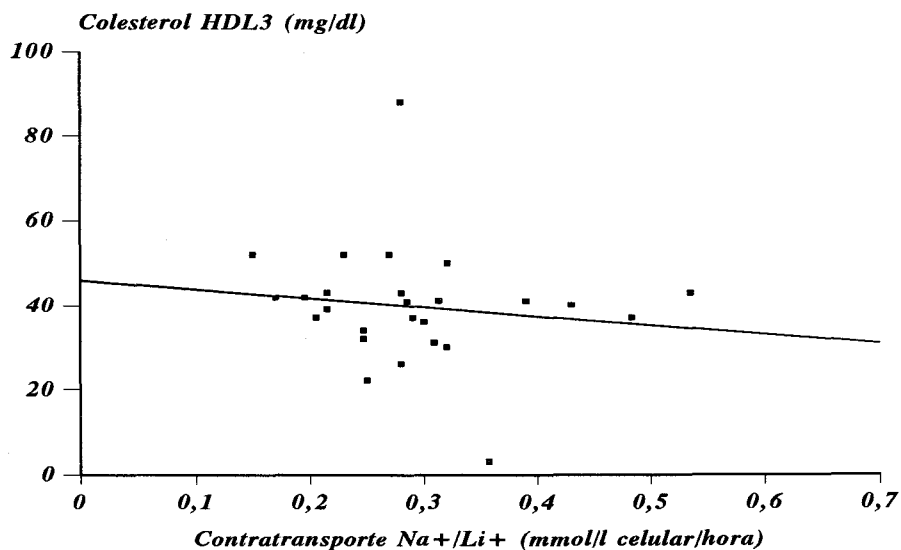


Figura 26.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y colesterol HDL3 en el grupo diabético ($r=-0.136$, no significativo).

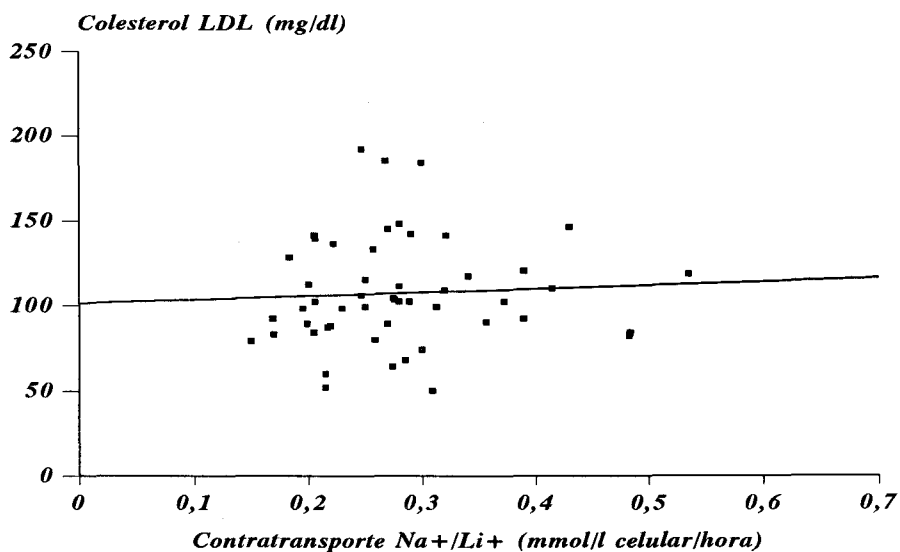


Figura 27.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y colesterol LDL en el grupo diabético ($r=0.055$, no significativo).

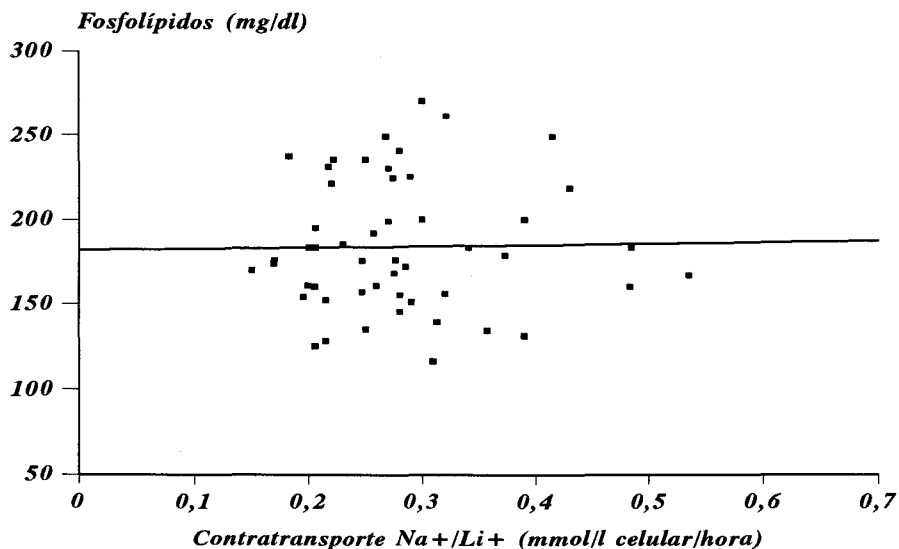


Figura 28.- Correlación entre la velocidad máxima del *contratransporte Na⁺/Li⁺* y fosfolípidos séricos en el grupo diabético ($r=0.016$, no significativo).

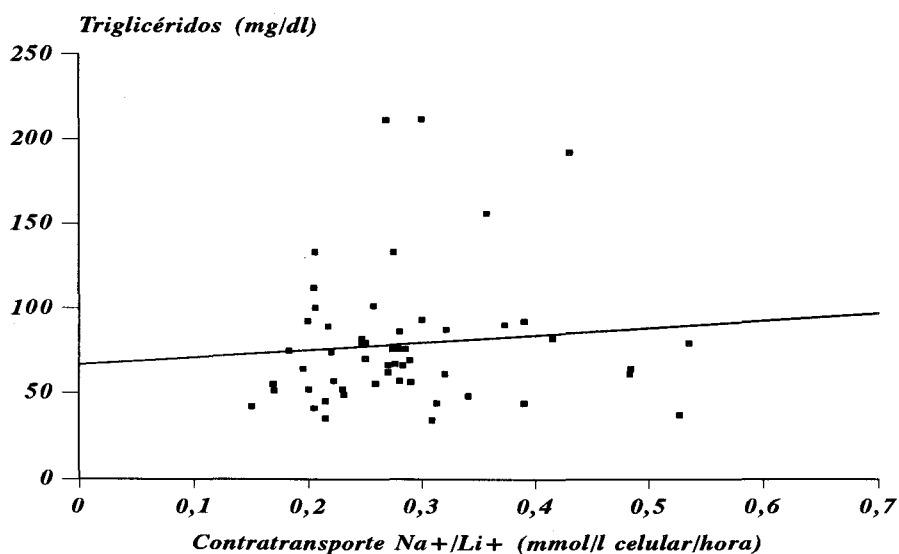


Figura 29.- Correlación entre la velocidad máxima del *contratransporte Na⁺/Li⁺* y triglicéridos séricos en el grupo diabético ($r=0.097$, no significativo).

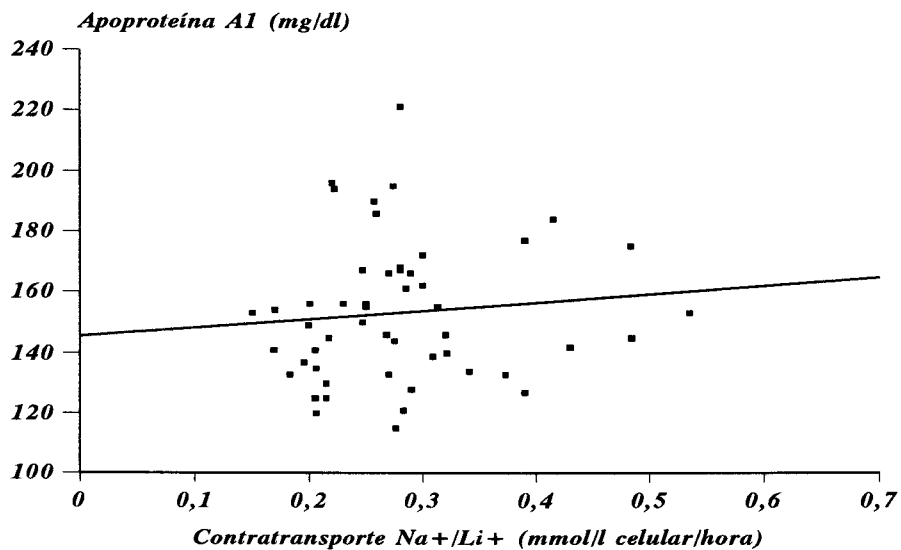


Figura 30.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y apoproteína A1 en el grupo diabético ($r=0.099$, no significativo).

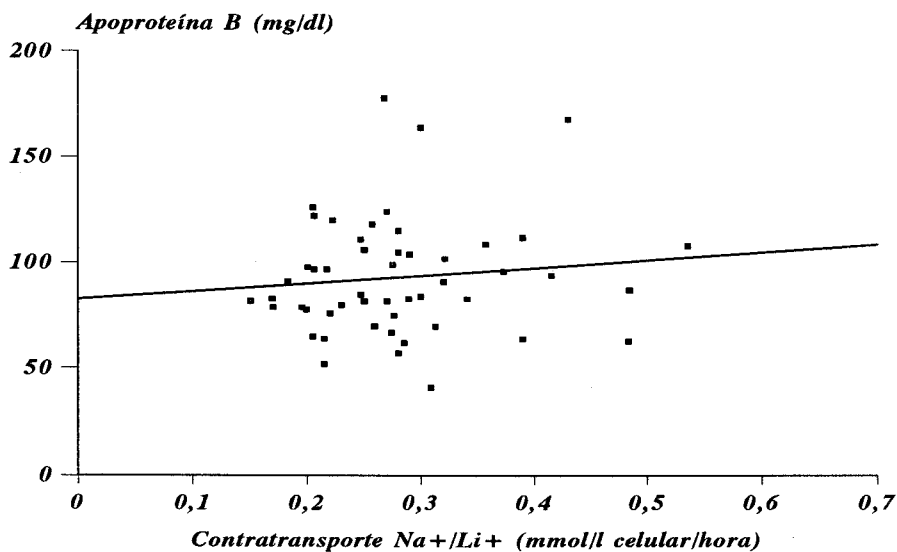


Figura 31.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y apoproteína B en el grupo diabético ($r=0.112$, no significativo).

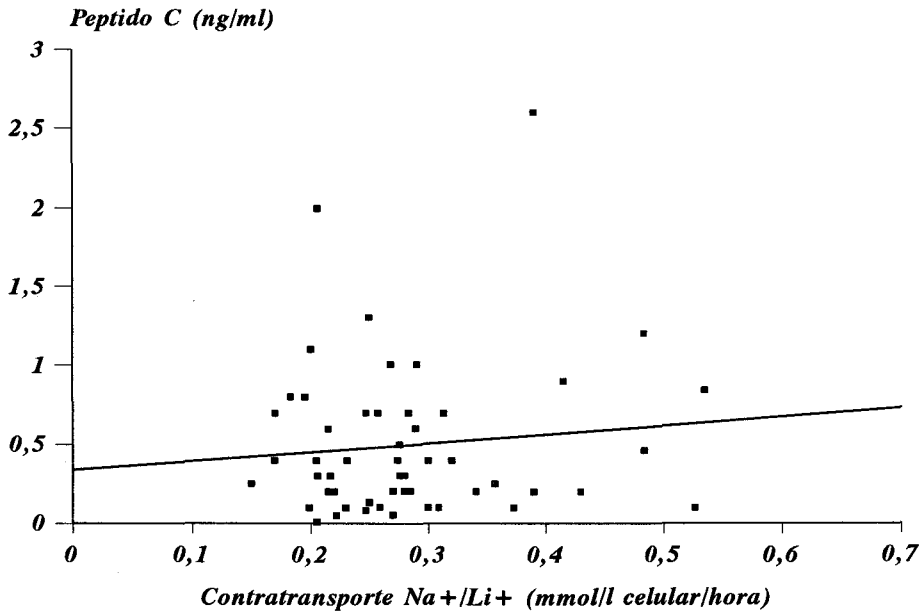


Figura 32.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y los niveles séricos de péptido C ($r=0.103$, no significativo).

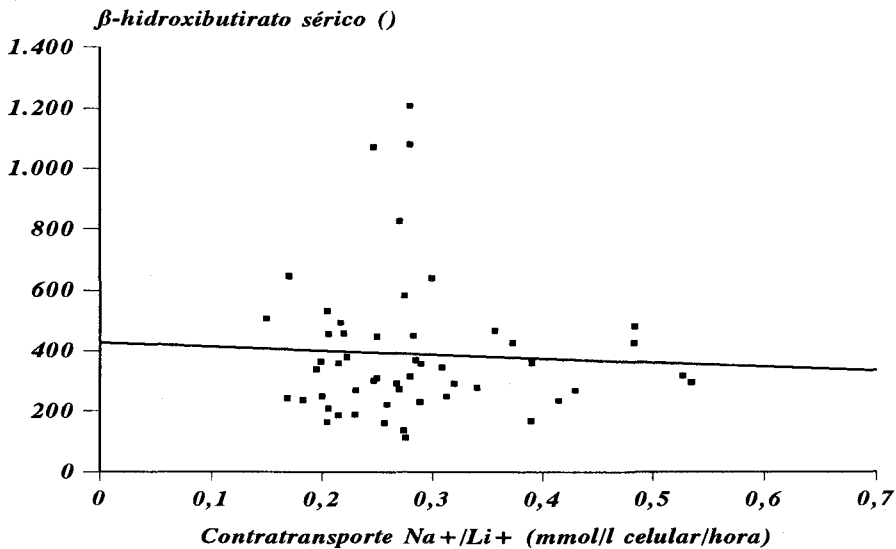


Figura 33.- Correlación entre la velocidad máxima del contratransporte Na⁺/Li⁺ y la concentración de β -hidroxibutirato sérico ($r=-0.051$, no significativo).

DISCUSSION.

DISCUSION.

Como hemos expuesto anteriormente, gran parte del debate suscitado en torno a la controvertida relación entre CT Na/Li y ND se centra en un punto clave: ¿Hasta qué punto la actividad del CT Na/Li se ve afectada por las anormalidades del medio interno propias de la diabetes mellitus? ¿En qué medida la actividad del CT Na/Li permanece como indicador de una predisposición genética a la hipertensión esencial y/o al elevado riesgo cardiovascular en este contexto clínico? Los intentos de aportar luz a la controversia se han visto dificultados además por las anomalías añadidas al medio interno por la disfunción renal, incipiente o abierta. Consecuentemente, hemos querido explorar esta relación eliminando este último factor de confusión mediante un estudio centrado en diabéticos de corta evolución. Como comentábamos anteriormente, hemos conseguido de este modo un grupo de pacientes muy homogéneo, sin complicaciones crónicas ni tratamientos a largo plazo (al margen de la insulina) y con una evolución de diabetes parecida. Al no tener sesgo alguno en la selección del paciente salvo la corta evolución, el grupo de estudio pretende ser una muestra representativa de la diabetes tipo 1 de corta evolución, incluyendo por tanto a aquéllos que van a desarrollar complicaciones renales y a los que no las van a presentar.

La correcta interpretación de los hallazgos obtenidos exigía estudiar de modo paralelo la relación presión arterial-CT Na/Li en un grupo de controles sanos, libre de sesgos significativos. Esta necesidad nos hizo recurrir al personal de nuestro hospital, sin condición preestablecida. Hemos comentado en la sección material y

métodos la significativa diferencia de edad entre grupo diabético y grupo control y las lógicas consideraciones acerca de la validez de la comparación en ambos grupos. Existen datos procedentes de muestras amplias de la población general que demuestran una influencia débil de la edad sobre la velocidad máxima del CT Na/Li, aunque tal relación perdía significación cuando se controlaban otras variables (98). Para obviar este problema, hemos considerado independientemente a diabéticos de más de 20 años y controles menores de 38 años. Como se ha expuesto más arriba, hemos conseguido así dos grupos bastante homogéneos respecto a edad, adiposidad y cifras tensionales. El estudio estadístico relacionado con velocidad máxima del CT Na/Li y cifras tensionales en ambos grupos ha sido realizado en primer lugar de modo restringido, y posteriormente ampliado a todo el grupo sin restricciones de edad. De modo reiterado hemos encontrado los mismos hallazgos en el análisis restringido y en el ampliado (con mayor poder estadístico por aumento del tamaño de las muestras), confirmando la mínima influencia de la edad observada en estudios anteriores.

La metodología empleada para la medida de la velocidad máxima del CT Na/Li ha sido extensivamente validada (56, 93, 97). Hemos hallado una variabilidad intraindividual media del 11.72%, que se aproxima al 9% descrito por Hunt (99) y al 11% según los resultados de Mangili et al (100). Nuestros datos en controles muestran una actividad de 0.349 ± 0.093 mmol/l celular/hora en varones y 0.272 ± 0.09 mmol/l celular/hora en mujeres. Los datos procedentes del estudio epidemiológico de Gubbio (98), mostraban una velocidad máxima del CT Na/Li de 0.319 ± 0.1 mmol/l celular/hora en varones ($n=1044$) y 0.267 ± 0.1 mmol/l

celular/hora en mujeres ($n=1192$). Los datos procedentes del Olivetti Heart Study (Nápoles, Italia), sobre una muestra de 101 varones normotensos e hipertensos no tratados, describen una velocidad máxima de CT Na/Li de 0.303 ± 0.17 mmol/l celular/hora (101). Hemos encontrado una velocidad máxima de CT Na/Li en diabéticos tipo 1 de 0.284 ± 0.089 mmol/l celular/hora. Según los datos de Catalano et al (102), sobre 41 diabéticos tipo 1 normotensos, normoalbuminúricos y normolipidémicos de edad 31 ± 9 años y evolución de diabetes 10 ± 5 años, la actividad observada del transportador que nos ocupa fue 0.31 ± 0.13 mmol/l celular/hora. La notable similitud entre nuestros resultados y lo descrito por la literatura permite cierta confianza en la validez de las asociaciones encontradas en el presente estudio.

No hemos encontrado diferencias significativas en la velocidad máxima del CT Na/Li entre ambos grupos de estudio, tanto en el análisis restringido como en el ampliado. Debido a que ningún grupo ha sido artificialmente enriquecido o empobrecido con individuos con historia familiar positiva o negativa de hipertensión, esta ausencia de diferencias, así como la homogeneidad de las distribuciones, apoyan la tesis de la no existencia de un efecto global del estado diabético per se en la velocidad máxima del CT Na/Li. Tal hallazgo contrasta con lo descrito por Elving et al (93), que encuentra diferencias significativas en la actividad del transportador que nos ocupa entre controles y diabéticos, tanto portadores de ND como libres de tal complicación. Es preciso destacar, sin embargo, que los 24 controles del estudio antes citado (93) tuvieron una velocidad máxima del CT Na/Li mediana de 0.244 mmol/l celular/hora (rango 0.134 a 0.390), claramente inferior

a la media encontrada en la población general en estudios más amplios. Ello sugiere la existencia de un sesgo de selección en los controles hacia individuos normotensos, que podría haber justificado el hallazgo de una actividad CT Na/Li menor a la encontrada en los diabéticos tipo 1. De hecho, las actividades CT Na/Li encontradas en diabéticos con ND (mediana 0.314; rango 0.162 a 0.676) y en diabéticos sin ND (mediana 0.325; rango 0.189 a 0.627) se aproximan a lo encontrado en la población general con la misma técnica por otros grupos (ver más arriba). Los hallazgos publicados por Rutherford (103) vienen a subrayar esta diferencia en la velocidad máxima del CT Na/Li, medida por dos técnicas diferentes, entre diabéticos tipo 1 sin complicaciones y controles sanos (0.24 ± 0.01 mmol/l celular/hora en controles vs. 0.33 ± 0.02 mmol/l celular/hora en diabéticos, medias \pm error standard de la media, $p < 0.001$). Sin embargo, es preciso destacar que los controles de este último estudio fueron seleccionados sobre la base de la ausencia de hipertensión arterial en los padres, lo que ha podido resultar en una infrarrepresentación de individuos genéticamente predispuestos a la hipertensión arterial esencial, contribuyendo de este modo a una posiblemente falsa diferencia entre controles y diabéticos. De hecho, si la diabetes per se otorga tal diferencia en la velocidad máxima del CT Na/Li es difícil explicar la ausencia de correlación significativa encontrada entre la actividad CT Na/Li y el nivel del HbA_{1c} encontrada en los dos estudios antes mencionados (93, 103). Un reciente estudio, desarrollado sobre diabéticos tipo 1 de menos de dos meses de evolución y un grupo control con una proporción comparable de antecedentes familiares de hipertensión arterial, no encontró diferencias significativas en la velocidad máxima del CT Na/Li entre ambos grupos de estudio (104).

Como hemos comentado anteriormente, la edad no ha influido de modo significativo en la velocidad máxima del CT Na/Li, tanto en diabéticos como en controles. De hecho, los extensos y previamente comentados datos de Gubbio (98) mostraban un coeficiente de correlación lineal simple de Pearson entre CT Na/Li y edad de 0.077 en varones y 0.119 en mujeres, alcanzando la significación estadística en base al gran tamaño de la muestra (ver más arriba). La transformación de la velocidad máxima del CT Na/Li en su logaritmo decimal mostró coeficientes de correlación lineal con edad de 0.065 en varones y 0.118 en mujeres, igualmente con significación estadística. Sin embargo, en un modelo de regresión lineal múltiple, al introducir un número de variables, desaparecía toda significación estadística en la relación entre edad y velocidad máxima del CT Na/Li (98). Del mismo modo, en una muestra de 101 varones normotensos e hipertensos no tratados que participaban en un estudio epidemiológico sobre factores de riesgo coronarios se encontró ausencia de correlación significativa entre edad y velocidad máxima del CT Na/Li ($r=0.024$), aunque el rango de edad de los integrantes del grupo de estudio es considerablemente inferior al de los integrantes del estudio epidemiológico de Gubbio (101). Los resultados publicados por Lopes de Faria et al (105), Elving et al (93) y Rutherford et al (103) muestran la ausencia de un efecto significativo univariante de la edad sobre la velocidad máxima del CT Na/Li en diabéticos tipo 1, aunque no se trata en ningún caso de un estudio epidemiológico transversal amplio. Los resultados aportados por Mangili et al (100) muestran como, en diabéticos tipo 1, la edad no modificó de modo significativo el efecto del diagnóstico renal sobre la velocidad máxima del CT Na/Li.

Nuestros resultados muestran un efecto significativo del sexo sobre la velocidad máxima del CT Na/Li en controles. De este modo, hemos observado diferencias en la velocidad máxima del CT Na/Li en varones respecto a mujeres del grupo control, que rozaron la significación estadística en el análisis restringido y la alcanzaron plenamente en el análisis ampliado. Existen varias aportaciones en la literatura que confirman la presencia de una mayor velocidad máxima del CT Na/Li en varones respecto a mujeres en la población general (98, 106, 107). Según los datos aportados por Turner et al (107), esta diferencia no está presente en la infancia y tiende a reducirse en el grupo de edad de 65 a 74 años. Los datos del estudio epidemiológico de Gubbio (98) muestran mayores actividades de CT Na/Li en varones respecto a mujeres, salvo en el grupo de edad 5-14 años. Testando la hipótesis que plantea si la maduración puberal podría explicar tales diferencias, Trevisan et al (98) mostraron como las chicas de grupos de edad 5-9 y 10-14 años tenían valores de velocidad máxima de CT Na/Li similares a las mujeres del grupo de edad de 15-24 años, mientras que el grupo de varones postmaduración sexual presentaba actividades significativamente superiores que los chicos de grupos de edad de 5-9 y 10-14 años. De cualquier modo, el mismo estudio muestra que, sometiendo los datos al análisis de regresión lineal múltiple, una vez que se incluyeron los datos relacionados al consumo de alcohol y el nivel de ácido úrico plasmático, las diferencias entre sexos desaparecieron. Se sugiere de este modo que las diferencias observadas en la velocidad máxima del CT Na/Li entre varones y mujeres del grupo control podrían estar mediadas por los mayores consumo de alcohol y uricemias propias de los varones.

A diferencia de lo encontrado en el grupo control, no hemos observado diferencia alguna en la velocidad del CT Na/Li entre varones y mujeres del grupo diabético, tanto en el análisis restringido como en el ampliado. El efecto del sexo sobre la velocidad máxima del CT Na/Li en diabetes tipo 1 no ha sido considerado explícitamente en la literatura, según los datos disponibles. Suponemos que la ausencia reiterada de diferencias entre varones y mujeres diabéticos ha podido obviar esta consideración. Hemos querido profundizar en este análisis sometiendo los datos al análisis de la varianza con clasificación por sexo y grupo. No encontramos significación estadística para el efecto de ningún factor en el análisis restringido. En el ampliado, encontramos un efecto significativo del sexo y de la interacción entre sexo y grupo, aunque no del grupo aisladamente. Debido a la ausencia de influencia de la edad sobre el transportador objeto de estudio en nuestros datos, consideramos la posibilidad de que el aumento del tamaño de la muestra haya permitido que los efectos de las variables consideradas hayan alcanzado la significación estadística. De cualquier modo, el efecto del sexo sobre la actividad del transportador que nos ocupa parece demostrado en el grupo control mediante los tests previamente comentados.

Hemos encontrado una relación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y cifras tensionales en el grupo control. En el análisis restringido, la velocidad máxima del CT Na/Li mantuvo una correlación significativa con presión sistólica ($r=0.562$) y con presión media ($r=0.483$), y una correlación casi significativa con presión diastólica ($r=0.406$). Al extender el análisis sin restricciones de edad, las tres correlaciones mantuvieron significación estadística,

si bien los coeficientes de correlación lineal (r) fueron algo menores ($r=0.372$, 0.389 y 0.371 , respectivamente). Trevisan et al (101), en un estudio epidemiológico en población no diabética describen la presencia de una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y presión sistólica por un lado ($r=0.342$, $p < 0.001$), y presión diastólica por el otro ($r=0.279$, $p < 0.01$). La entidad de estas asociaciones disminuyó ostensiblemente al controlar el índice de masa corporal, aunque ambas correlaciones mantuvieron la significación estadística. De igual modo, en el estudio epidemiológico efectuado sobre la población de Gubbio se encontró una asociación positiva significativa y fuerte entre CT Na/Li y cifras tensionales, tanto en análisis univariante, como controlando la edad (108). Sin embargo, en este mismo estudio, la fuerza de tales asociaciones disminuyó tras incluir en el análisis índice de masa corporal, ingesta etílica y uricemia. Al igual que lo descrito para la velocidad máxima del CT Na/Li, el sexo influyó significativamente sobre presión arterial en el grupo control. De este modo, observamos diferencias significativas en la presión sistólica, diastólica y media entre varones y mujeres de este grupo, tanto en el análisis restringido como en el ampliado.

En el grupo diabético de edad superior a 20 años, encontramos correlaciones con significación estadística entre velocidad máxima del CT Na/Li y presión arterial diastólica ($r=0.372$), así como entre CT Na/Li y presión arterial media ($r=0.386$). La correlación observada entre la actividad del transportador que nos ocupa y presión arterial sistólica fue casi significativa ($r=0.328$). De cualquier modo, los coeficientes de correlación lineal obtenidos son inferiores a los observados para el

grupo control de edad inferior a los 38 años. Al ampliar el análisis a todo el grupo diabético, podemos observar la pérdida de toda significación estadística en las correlaciones de la velocidad máxima del CT Na/Li con presión sistólica, diastólica y media, respectivamente. Tal hallazgo contrasta netamente con lo publicado por Lopes de Faria et al (105), que describen una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y presión arterial media ($r_s=0.37$, $p<0.001$). Sin embargo, es de destacar que este trabajo se efectuó sobre diabéticos de una edad y evolución de diabetes considerablemente superior a los estudiados en el presente estudio, que incluía a un grupo de microalbuminúricos y a otro de macroalbuminúricos, y que la correlación se estudió mediante el método de Spearman para correlación de rangos. A diferencia del estudio anterior, los resultados publicados por Elving et al (93) muestran la ausencia de correlación entre velocidad máxima de CT Na/Li y presión arterial media, aunque tal estudio se efectuó nuevamente en diabéticos de edad y evolución de diabetes netamente superiores a los estudiados en el presente trabajo, incluía normoalbuminúricos y macroproteinúricos, emplea el método de Spearman para rangos y no informa del coeficiente de correlación de Spearman alcanzado. Catalano et al (102) informan de una correlación no significativa entre velocidad máxima de CT Na/Li y presión sistólica ($r_s=0.11$), y de una correlación significativa débil entre actividad del transportador que nos ocupa y presión arterial diastólica ($r_s=0.28$, $p<0.05$). En este caso el estudio se efectuó sobre pacientes diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos normotensos y normolipidémicos de una edad parecida a los incluidos en el presente estudio, aunque emplean el método de correlación de Spearman para rangos. Jones et al (72) informan de una asociación significativa entre la velocidad máxima del CT

Na/Li y presión arterial media ($r=0.54$, $p<0.001$) en microalbuminúricos de edad y evolución de diabetes ligeramente superior a los estudiados en el presente trabajo. Al no comentar explícitamente acerca de esta asociación en normoalbuminúricos, suponemos que no fue significativa. Del mismo modo, estos autores muestran que, en el análisis de regresión múltiple, la velocidad máxima del CT Na/Li fue el único determinante significativo independiente de la presión arterial media ($t=2.4$, $p<0.02$) en el grupo microalbuminúrico. Rutherford et al no encontraron correlación significativa alguna entre la actividad CT Na/Li medida de modo standard, su V_{max} o su K_m con presión arterial media, tanto en diabetes tipo 1 no complicada (103) como en pacientes portadores de ND (109). Para terminar, es preciso comentar los hallazgos de Mangili et al (100), quienes encuentran que sólo la presión arterial diastólica contribuyó significativamente a incrementar la predictividad del diagnóstico renal sobre el CT Na/Li en el análisis de la covarianza. Los mismos autores describen que una proporción discreta, aunque significativa, de la variabilidad interindividual de la presión diastólica se explicaría por la velocidad máxima del CT Na/Li. Este análisis resistió la inclusión en el modelo de edad, sexo, índice de masa corporal y medicación antihipertensiva. No se objetivaron efectos significativos sobre presión arterial sistólica o media. Como se desprende de los distintos resultados expuestos, la relación entre presión arterial y velocidad máxima del CT Na/Li en diabetes tipo 1 ha mostrado diferencias según la edad y evolución de diabetes de los pacientes estudiados, la presencia de anormalidades más o menos intensas en la función renal y el tipo de análisis empleado.

A diferencia de lo expuesto con el grupo control, el sexo no influyó de modo apreciable los valores de presión arterial sistólica, diastólica y media en diabéticos. Al igual que lo realizado para la velocidad máxima del CT Na/Li, el distinto comportamiento de la influencia del sexo en ambos grupos de estudio nos motivó a buscar el grado de consistencia de estas asociaciones mediante el análisis de la varianza con clasificación de doble vía (sexo y grupo de estudio). Considerando en primer lugar el análisis restringido a diabéticos de edad superior a 20 años y controles de edad inferior a 38 años, pudo demostrarse un efecto significativo sobre presión arterial sistólica del sexo y de la interacción entre sexo y grupo, aunque no del grupo aisladamente. Los mismos hallazgos pudieron objetivarse con la presión arterial diastólica y la media. El análisis ampliado sin restricciones de edad mostró prácticamente los mismos resultados, aunque pudo objetivarse además un efecto significativo del grupo sobre la presión arterial diastólica. Hemos estudiado la influencia del sexo sobre la relación CT Na/Li-presión arterial mediante la comparación de vectores de medias (T^2 de Hotelling). Tal método de análisis mostró una diferencia significativa entre varones y mujeres del grupo control en la relación CT Na/Li-presión sistólica, CT Na/Li-presión diastólica y CT Na/Li-presión arterial media, tanto considerando el análisis a menores de 38 años, como incluyendo a todo el grupo. Sin embargo, este mismo método no identificó la presencia de diferencia significativa alguna entre varones y mujeres del grupo diabético en las tres relaciones antes mencionadas, tanto considerando diabéticos de edad superior a 20 años, como incluyendo a todo el grupo.

Puede concluirse por tanto que, al igual que sobre la velocidad máxima del CT Na/Li, nuestros datos muestran una influencia significativa del sexo sobre presión arterial en controles. En diabetes tipo 1 no encontramos esta influencia ni sobre la actividad del transportador que nos ocupa ni sobre la presión arterial, siendo además mucho más inconsistente la relación univariante entre CT Na/Li y presión arterial. No hemos encontrado en la literatura datos con los que contrastar estas observaciones. Nuestros resultados sugieren que la condición diabética se asocia a la desaparición de unas diferencias sexuales en velocidad máxima del CT Na/Li y valores de presión arterial que están bien contrastadas en la población general, en éste y otros estudios. Es probable que los varones diabéticos tengan menores consumo alcohólico y uricemias que los varones no diabéticos de edad similar, aunque no hemos controlado tales variables. Otra posibilidad es que alguna anomalía no medida del medio interno asociada a la diabetes tipo 1 sea capaz de alterar la actividad del CT Na/Li, permitiendo que factores capaces de influir sobre este parámetro en la población general no tengan el mismo efecto en la población diabética. En este sentido podemos citar los resultados de un reciente estudio publicado por la unidad de hipertensión y lípidos de nuestro hospital (87), que encuentra que las membranas celulares de pacientes diabéticos tipo 1 muestran un descenso marcado en la cantidad total de ácidos grasos poliinsaturados, un aumento de la proporción de ácidos grasos saturados y un descenso en la proporción de la razón poliinsaturados/saturados. Por este mismo motivo parece arriesgado atribuir la misma significación a la actividad del transportador que nos ocupa en diabetes tipo 1 que en la población no diabética.

Hemos encontrado una notable falta de influencia de la historia familiar de hipertensión arterial sobre la velocidad máxima del CT Na/Li, tanto en diabéticos tipo 1 como en controles, en el análisis restringido y en el ampliado. El hecho de encontrar proporciones comparables de individuos con antecedentes familiares de hipertensión arterial (33.33% en diabéticos vs. 40% en controles, no significativo) habla a favor de la homogeneidad de las dos muestras en cuanto a predisposición a la hipertensión arterial. Tal dato se calificó como positivo ante la ausencia de dudas a tal respecto (ver sección material y métodos). Si no existía tal certeza, se insistía en posteriores revisiones, a menudo con la presencia del familiar implicado (que pudo confirmar o desdecir el dato). La dificultad derivada del desconocimiento de la presencia de hipertensión arterial familiar queda a nuestro juicio parcialmente obviada si tenemos en cuenta que distintos estudios epidemiológicos llevados a cabo en nuestro país cifran la prevalencia de hipertensión arterial en torno al 30% (por citar datos pertenecientes a nuestra comunidad autónoma, baste el estudio Al-Andalus). Viberti et al (54) muestran mayores presiones arteriales sistólicas y diastólicas en los padres de diabéticos tipo 1 con proteinuria respecto a lo hallado en padres de diabéticos tipo 1 sin complicaciones renales. El mismo grupo, en un estudio posterior (71), encontró mayores actividades CT Na/Li en padres de diabéticos tipo 1 proteinúricos respecto a lo hallado en padres de pacientes normoalbuminúricos. Sorprendentemente, este mismo estudio (71) no encontró diferencias significativas en la presión arterial de los padres de diabéticos proteinúricos respecto a los padres de diabéticos normoalbuminúricos. En contraste, Jensen et al (75) no encontraron diferencia alguna en cuanto a presión arterial, prevalencia de hipertensión, prevalencia de consumo de medicación antihipertensiva

y velocidad máxima del CT Na/Li entre padres de diabéticos proteinúricos y padres de pacientes libres de complicaciones renales. En un estudio clásico, Krolewski et al (69) encontraron que la presencia de hipertensión parental incrementó de modo significativo el riesgo de padecer complicaciones renales en diabéticos tipo 1, particularmente en los portadores de un peor control glucémico. El único estudio que ha contemplado de modo explícito la relación velocidad máxima del CT Na/Li-presencia de hipertensión en los padres de diabéticos tipo 1, lo hace uniendo diabéticos y controles, y no encuentra diferencia alguna entre aquéllos con antecedentes familiares de hipertensión arterial y aquéllos sin historia familiar en este sentido en cuanto a velocidad máxima del CT Na/Li y presión arterial (104).

La adiposidad, medida mediante el índice de masa corporal, no mostró una relación significativa con la velocidad máxima del CT Na/Li en ambos grupos de estudio. Ello contrasta abiertamente con los datos obtenidos por Trevisan et al (98), que encuentran una correlación univariante significativa de la velocidad máxima del CT Na/Li con el índice de masa corporal tanto en varones ($r=0.188$) como en mujeres (0.230). Estas correlaciones persistieron significativas tras transformar la actividad del transportador que nos ocupa en su logaritmo decimal, y mostraron independencia tras su inclusión en un modelo de regresión lineal múltiple. El mismo autor, en un trabajo diferente (101), obtiene correlaciones univariantes significativas de la velocidad máxima del CT Na/Li tanto con el índice de masa corporal ($r=0.303$, $p < 0.001$) como con el índice cintura/cadera ($r=0.294$, $p < 0.01$). Turner et al (107) encuentran también una correlación significativa de actividad CT Na/Li con índice de masa corporal en donantes de sangre. En diabetes tipo 1 los datos

publicados no han mostrado la existencia de una correlación significativa entre índice de masa corporal y velocidad máxima del CT Na/Li (93, 100, 102, 103, 109), aunque en ningún caso se trata de un estudio epidemiológico amplio.

Del mismo modo, no encontramos una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y tiempo de evolución de diabetes, aunque lógicamente existe un inevitable sesgo de selección adquirido al centrar este estudio en diabetes tipo 1 de corta evolución. De cualquier modo, tal relación no ha sido descrita en la literatura existente (100, 102, 103, 109), aunque reiteramos que no existe un estudio epidemiológico amplio acerca de la velocidad máxima del CT Na/Li en diabéticos tipo 1, sino estudios parciales diseñados para responder cuestiones concretas. Igualmente, tampoco encontramos una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y dosis insulínica por kilogramo de peso. Los datos publicados acerca de tal asociación han sido negativos (100, 102). Encontramos una correlación significativa débil entre la actividad del transportador objeto de estudio y la proporción de la dosis insulínica compuesta por insulina rápida. No disponemos de datos en la literatura para contrastar este hallazgo, ni tenemos una base clara para interpretarlo.

Estudios recientes realizados sobre la población no diabética sugieren que velocidades máximas elevadas del CT Na/Li se asocian a una mayor prevalencia de complicaciones cardiovasculares (56, 110, 111). Del mismo modo, en un estudio realizado sobre pacientes diabéticos tipo 1 hipertensos, pero libres de complicaciones renales, se encontró que aquéllos portadores de mayores actividades

CT Na/Li tenían mayores tasa de filtración glomerular, tasa de excreción de albúmina, reabsorción fraccional proximal de sodio, pool de sodio intercambiable, volumen renal, índice de masa ventricular izquierda y triglicéridos plasmáticos, así como menores HDL colesterol y sensibilidad a la insulina (medida por clamp euglucémico) (91). Otro estudio efectuado en diabéticos normotensos normoalbuminúricos demuestra una asociación entre actividades elevadas del CT Na/Li con una menor sensibilidad a la insulina, hipertrofia ventricular izquierda y anomalías lipídicas (92). En relación a estos hallazgos, hemos querido investigar si la presencia de antecedentes familiares de tres tipos de enfermedad cardiovascular aterosclerosa (cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y enfermedad vascular periférica) se asociaba o no con elevación de la velocidad máxima del CT Na/Li. El pequeño número de pacientes o controles positivos para tales aspectos impidió extraer conclusión alguna. Probablemente sea preciso incrementar el tamaño de la muestra o estudiar una población de edad superior para obtener conclusiones concretas.

La relación velocidad máxima del CT Na/Li y control glucémico no ha mostrado datos positivos. Ni el control inmediato (glucemia), ni a corto (fructosamina), medio (HbA_{1c}) o largo plazo (HbA_{1c} media) han mostrado una correlación significativa con la actividad del transportador objeto de estudio. De hecho, la ausencia de diferencias significativas entre grupos diabético y control sugería netamente la falta de efecto del ambiente glucémico sobre la velocidad máxima del CT Na/Li. A este respecto, es preciso destacar que la gran mayoría de los estudios que han considerado la cuestión de modo explícito, o no encontraron



una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y el nivel del HbA_{1c} (72, 93, 100, 103, 105, 109), o no encontraron diferencias significativas en dicho parámetro entre grupos con velocidad máxima del CT Na/Li normal o alta (73, 91). La única nota disonante en esta voz la aportan los recientes resultados de Rota et al (104), sobre 22 diabéticos tipo 1 de comienzo reciente. Estos autores describen el hallazgo de una correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y glucemia en todo el grupo de estudio ($r=0.438$, $p<0.01$), así como entre actividad CT Na/Li y HbA_{1c} en el grupo de pacientes hiperfiltradores ($r=0.8$, $p<0.005$). Sin embargo, no encuentran diferencia alguna en la velocidad máxima del CT Na/Li entre controles, pacientes normofiltradores y pacientes hiperfiltradores, ante lo cual el hallazgo anterior resulta de difícil interpretación.

No hemos encontrado influencia destacable sobre la actividad del transportador que nos ocupa por parte de parámetro alguno del perfil lipídico plasmático. Según Carr et al (89), la hiperlipidemia se asoció de modo independiente a actividades elevadas del CT Na/Li. Los mismos autores describen una correlación positiva significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y triglicéridos plasmáticos ($r_s=0.47$, $p<0.001$) y una correlación significativa y negativa con el colesterol HDL ($r_s=-0.29$, $p=0.01$), sin encontrar correlación significativa alguna con colesterol total, colesterol LDL o colesterol VLDL. Los mismos autores, en un trabajo posterior (90), describieron una disminución significativa de la velocidad máxima del CT Na/Li tras disminución de los lípidos plasmáticos con tratamiento hipolipidemiante. Este cambio afectó sobre todo a pacientes portadores de hiperlipidemia familiar combinada y se asoció de modo

significativo al descenso de triglicéridos y de colesterol. No hubo cambio significativo en el índice de masa corporal en este período. El análisis de regresión múltiple mostró una asociación más fuerte del descenso de la velocidad máxima del CT Na/Li con el cambio de los triglicéridos que con el del colesterol total. Esta asociación de la actividad del transportador que nos ocupa con la trigliceridemia en la población general ha sido advertida por otros grupos de estudio (112). Los resultados del estudio epidemiológico de Gubbio (98) demuestran la existencia de una correlación univariante significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li con colesterol no HDL tanto en varones como en mujeres. El mismo estudio demuestra la existencia de una correlación significativa y negativa de la actividad del transportador que nos ocupa con el colesterol HDL en ambos sexos. Tras someter los datos al análisis multivariante se pudo comprobar la persistencia de la significación estadística de la correlación negativa colesterol HDL-CT Na/Li en ambos sexos, y la positiva colesterol no HDL-CT Na/Li en mujeres. Otro estudio más reciente (113), realizado sobre 43 adultos jóvenes, encuentra correlaciones significativas y negativas entre velocidad máxima del CT Na/Li y ratio colesterol HDL/colesterol total ($r_s = -0.43$, $p < 0.005$), y entre CT Na/Li y colesterol HDL ($r_s = -0.37$, $p < 0.02$).

En diabetes tipo 1, la relación velocidad máxima del CT Na/Li y lípidos plasmáticos ha mostrado resultados controvertidos. De este modo, Rutherford et al no encuentran correlación alguna entre velocidad máxima del CT Na/Li y lípidos plasmáticos, considerando separadamente diabetes tipo 1 no complicada (103) y portadores de ND (109). Elving et al destacan la ausencia de correlación

significativa entre colesterol total y velocidad máxima del CT Na/Li (93). Mangili et al, sobre el estudio de 35 normoalbuminúricos, 25 microalbuminúricos y 10 macroalbuminúricos, encuentran que ni el colesterol total ni los triglicéridos mejoran de modo significativo la predictividad del diagnóstico renal sobre la velocidad máxima del CT Na/Li (100). Catalano et al subrayan la ausencia de correlación significativa entre el parámetro que nos ocupa y la trigliceridemia (102), sin comentar de modo explícito la relación obtenida con colesterol total. De cualquier modo, los resultados del estudio anterior (102) demuestran la inexistencia de diferencias significativas en cuanto a colesterol total y triglicéridos entre pacientes con actividades elevadas del CT Na/Li y pacientes con actividades normales. En contraste con los resultados anteriores, Lopes de Faria et al (92), en un estudio efectuado sobre 24 diabéticos tipo 1 normotensos y no proteinúricos, encuentra que el grupo de 12 portadores de velocidades máximas elevadas de CT Na/Li presentaban mayores trigliceridemia, ratio LDL/HDL y apoproteína B. Estos resultados parecen estar en consonancia con lo publicado por Trevisan et al (91) sobre 31 diabéticos tipo 1 portadores de hipertensión arterial, aunque libres de ND abierta. Estos autores encuentran que el subgrupo de diabéticos tipo 1 hipertensos con una velocidad máxima elevada del CT Na/Li presentaban un colesterol HDL significativamente más bajo que el subgrupo de diabéticos tipo 1 hipertensos portadores de actividades CT Na/Li normales (1.1 ± 0.03 vs. 1.6 ± 0.09 mmol/l, respectivamente, $p < 0.05$). Los triglicéridos plasmáticos fueron mayores en el primer grupo que en el segundo (1.62 ± 0.1 vs. 1.53 ± 0.11 mmol/l, respectivamente, $p < 0.05$), no existiendo diferencias en la cifra de colesterol total. Del mismo modo, Jones et al (72), sobre 72 diabéticos tipo 1 (36 microalbuminúricos y 36

normoalbuminúricos), encuentra correlaciones univariantes significativas entre velocidad máxima del CT Na/Li y triglicéridos totales ($r=0.41$, $p<0.05$), triglicéridos VLDL ($r=0.48$, $p<0.01$), colesterol VLDL ($r=0.43$, $p<0.05$) y apoproteína B ($r=0.56$, $p<0.05$). Estos mismos autores encuentran una correlación negativa y significativa entre la actividad del transportador que nos ocupa y el colesterol HDL₂ ($r=-0.39$, $p<0.05$). Cuando cada lipoproteína se integró en un análisis de regresión múltiple como variable dependiente con la actividad CT Na/Li, tasa de excreción de albúmina, HbA₁ e insulina por kilogramo de peso como variables independientes, se constató una correlación significativa positiva e independiente entre velocidad máxima del CT Na/Li con triglicéridos totales ($t=2.4$, $p<0.05$) y triglicéridos VLDL ($t=2.3$, $p<0.05$) (72).

Los niveles basales de péptido C, indicador de reserva insular, no mostraron una asociación significativa con la actividad del transportador que nos ocupa. Este hallazgo confirma los resultados de Catalano et al (102) y Carr et al (73), no constando la existencia de datos en otro sentido. Por otra parte, los niveles séricos de β -hidroxibutirato tampoco mostraron correlación significativa alguna con la actividad del CT Na/Li, dato que confirma los hallazgos en tal sentido de Carr et al (73).

Desde la publicación de los primeros trabajos, comentados en la introducción, acerca de la relación CT Na/Li-ND, la controversia no ha hecho sino acrecentarse. Los principales grupos de estudio acerca de la cuestión han publicado ampliaciones de sus resultados, con mayor número de individuos. Los resultados de

Barzilay et al (114), del grupo de Krolewski, demuestran que los pacientes diabéticos tipo 1 con nefropatía avanzada tenían con mayor frecuencia padre o madre hipertenso (odds ratio 3.8), valores más elevados de CT Na/Li (odds ratio 10.0 para el tercil más alto) y mayor presión arterial media durante adolescencia y juventud (odds ratio 3.1 para aquéllos por encima de la mediana), cuando se comparaban con diabéticos tipo 1 normoalbuminúricos y normotensos pese a una larga evolución de diabetes. Del mismo modo, los primeros tenían un control glucémico sustancialmente peor que los segundos durante sus primeros doce años de diabetes. Aquéllos pacientes de similar evolución, pero portadores de hipertensión sin ND, se asemejaron a los portadores de ND abierta respecto a marcadores de predisposición a la hipertensión arterial, pero mostraron un control glucémico notablemente mejor que estos últimos. Lopes de Faria et al (105), del grupo de Viberti, sobre un estudio epidemiológico amplio realizado en 185 diabéticos tipo 1, encuentra una prevalencia de velocidad máxima de CT Na/Li elevada (>0.41 mmol/l celular/hora) de 21.5, 42.8 y 51.7% ($p=0.0005$), en pacientes con normo, micro y macroalbuminuria, respectivamente. Del mismo modo, en un análisis de regresión lineal múltiple, encuentran un efecto significativo sobre la tasa de excreción de albúmina (como variable continua) y sobre la presencia de micro o macroproteinuria (como variable categórica) de la velocidad máxima del CT Na/Li, la presión arterial media, el valor de HbA_{1c} y la evolución de diabetes. Del mismo modo, estos autores demostraron que el riesgo de proteinuria era significativamente superior en pacientes con una velocidad máxima de CT Na/Li elevada que en pacientes portadores de actividades normales (odds ratio 3.8, 95% del intervalo de confianza 1.9 a 7.8). Igualmente, se encontró un exceso relativo de pacientes con

proteinuria (micro y macroalbuminuria) en el grupo portador de velocidad máxima del CT Na/Li elevada y HbA_{1c} por encima de la mediana de la población diabética global (chi-cuadrado= 9.7, p<0.002). De este modo, ambos grupos vienen a insistir en sus valoraciones iniciales (69, 70): la predisposición genética a la hipertensión, medida en base a la actividad del transportador que nos ocupa, es un factor clave para el desarrollo de ND. Sin embargo, ambos grupos vienen a insistir en la importancia del mal control glucémico como cofactor preciso para el desarrollo de ND en los genéticamente predispuestos. Esta conclusión es perfectamente compatible con los importantes resultados del recientemente publicado estudio multicéntrico DCCT (34): una reducción con terapia intensiva de la incidencia de microalbuminuria de un 39% (intervalo de confianza del 95%: 21 al 52%), y de la de macroalbuminuria de un 54% (intervalo de confianza del 95%: 19 al 74%).

Por otra parte Elving et al (93), insisten en la ausencia de diferencias significativas en la velocidad máxima del CT Na/Li entre portadores de ND y normoalbuminúricos, así como entre hermanos concordantes para la presencia de ND y hermanos concordantes para la ausencia de tal complicación. Este autor se plantea una importante cuestión metodológica respecto a la medida de la velocidad máxima del CT Na/Li: los cuatro grupos de estudio que encuentran una relación velocidad máxima del CT Na/Li con la presencia de anormalidades renales en diabetes tipo 1 emplean el CLi para conseguir sobrecargar de Li el interior de los eritrocitos (69, 70, 72, 73), mientras que los dos grupos que no encuentran tal anormalidad emplean el CO₃HLi (75, 93). Elving et al midieron la velocidad máxima

del CT Na/Li con ambos métodos, encontrando resultados prácticamente idénticos. Estos autores no encuentran una explicación para la importante diferencia entre sus resultados y los anteriores, e insisten en que la relación CT Na/Li-ND está probablemente mediada por factores exógenos (93).

Otros estudios, cuyos resultados ya hemos entresacado de modo parcial, han venido a añadir otros puntos de vista a la controversia. Rutherford et al (109) no encuentran diferencia alguna entre portadores de ND, normoalbuminúricos, o controles sanos en la velocidad máxima del CT Na/Li medida por el método de Canessa (56), aunque encuentran descensos importantes en K_m y V_{max} en la actividad del transportador medida por otra técnica (103) en portadores de ND. El reciente estudio de Rota et al (104) no encuentra diferencias en la velocidad máxima del CT Na/Li en diabéticos hiperfiltradores respecto a lo hallado en normofiltradores, aunque tal estudio se centraba en diabéticos próximos a su debut, momento en que la hiperfiltración no posee capacidad predictiva alguna sobre el desarrollo a largo plazo de complicaciones renales (6,7). El estudio de Trevisan et al (115), del grupo de Viberti, demuestra una significativa elevación de la actividad intercambiadora Na^+/H^+ en fibroblastos cutáneos cultivados en los pacientes portadores de ND comparados con normoalbuminúricos y controles sanos, confirmando así los hallazgos del mismo grupo mediante la más extendida técnica de Canessa et al (56). Hemos comentado previamente la existencia de datos que demuestran que una velocidad máxima elevada de CT Na/Li se asocia a un perfil desfavorable en cuanto a riesgo cardiovascular, independientemente de la presencia de hipertensión, en diabéticos y población general (91, 92, 110, 111).

En base a todos estos datos, parece claro que la controversia está lejos de encontrar un consenso. La multiplicidad de estudios, la diferencia en los diseños, en las poblaciones estudiadas, en los sesgos admitidos, las dificultades metodológicas, así como la interpretación de los hallazgos obtenidos plantean una infinidad de problemas de difícil solución. Una parte sustancial de las dificultades deriva de las lógicas limitaciones de los estudios de corte transversal, que permiten establecer asociaciones, pero no relaciones de causa y efecto. Es preciso a todas luces que se lleve a cabo un estudio prospectivo amplio que permita dilucidar sin lugar a dudas si una velocidad máxima elevada del CT Na/Li permite establecer un mayor riesgo de desarrollar ND en la evolución posterior. Como indicábamos en la introducción, la confirmación de tal hallazgo permitiría establecer estrategias concretas para concentrar atención y recursos sobre esta población en riesgo, de modo que podamos realmente influir sobre la historia natural de la ND, y con ello, sobre el exceso de mortalidad asociada a la diabetes tipo 1.

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

1.- *El estado diabético per se no se asocia a alteración medible de la velocidad máxima del CT Na/Li.*

2.- *La historia familiar de hipertensión arterial no aporta influencia alguna en la velocidad máxima del CT Na/Li, tanto en el grupo diabético como en el grupo control.*

3.- *El estado diabético atenúa o hace desaparecer la correlación significativa entre velocidad máxima del CT Na/Li y valores de presión arterial demostrada en la población general.*

4.- *El estado diabético se asocia a la desaparición de diferencias sexuales en velocidad máxima del CT Na/Li y valores de presión arterial demostradas en la población general.*

5.- *Globalmente, ninguna estimación del ambiente glucémico muestra la menor influencia sobre la velocidad máxima del CT Na/Li.*

6.- *Ningún parámetro incluido en el perfil lipídico plasmático posee una influencia significativa sobre la velocidad máxima del CT Na/Li.*

BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Gatling W, Mullee MA, Knight C, Hill RD. *Microalbuminuria in diabetes. Relationship between urinary albumin excretion and diabetes related variables. Diabetic Med* 1988; 5:348-51.

- 2.- Jensen T, Borch-Johnsen K, Kofoed-Enevoldsen A, Deckert T. *Coronary heart disease in young type 1 (insulin-dependent diabetic patients with and without diabetic nephropathy: Incidence and risk factors. Diabetologia* 1987; 30: 144-8.

- 3.- Jarrett RJ. *The epidemiology of coronary heart disease and related factors in the context of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. En: Jarrett RJ, Diabetes and Heart Disease. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1984: 1-23.*

- 4.- Mogensen CE. *Editorial review: Microalbuminuria and incipient diabetic nephropathy. Diabetic Nephropathy, 1984; 3: 75-8.*

- 5.- Mogensen CE, Osterby R, Gundersen HJG. *Early functional and morphological vascular renal consequences of the diabetic state. Diabetologia* 1979; 17:71-6.

- 6.- Christiansen JS, Gammelgaard J, Tronier B, Svendsen PA, Parving H-H. *Kidney function and size in diabetics before and during initial insulin treatment. Kidney int* 1982; 21: 683-8.

- 7.- Wiseman MJ, Viberti GC. *Glomerular filtration rate and kidney volume in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus revisited. Diabetologia 1982; 25: 530.*
- 8.- Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM. *The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. Am J Med 1982; 72: 375-80.*
- 9.- Steffes MW, Brown DM, Mauer SM. *Diabetic glomerulopathy following unilateral nephrectomy in the rat. Diabetes 1978; 27: 35-41.*
- 10.- Mogensen CE. *Early diabetic renal involvement and nephropathy. Can treatment modalities be predicted from identification of risk factors? Diabetes Ann 1987; 3: 306-24.*
- 11.- Mogensen CE, Andersen MJF. *Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetics. Diabetes 1972; 22: 706-12.*
- 12.- Christiansen JS, Frandsen M, Parving H-H. *The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetics. Diabetologia 1981; 20: 199-204.*
- 13.- Wiseman MJ, Viberti GC, Keen H. *Threshold effect of plasma glucose in the glomerular hyperfiltration of diabetes. Nephron 1984; 38: 257-60.*

- 14.- Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T. *Diabetic nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes: An epidemiological study. Diabetologia* 1983; 25: 496-501.
- 15.- Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. *The changing natural history of nephropathy in type 1 diabetes. Am J Med* 1985; 78: 785-94.
- 16.- Keen H, Chlouverakis C. *An immunoassay for urinary albumin at low concentrations. Lancet* 1963; ii: 913-16.
- 17.- Close CF, Scott GS, Viberti GC. *Rapid detection of urinary albumin at low concentration by an agglutination inhibition technique. Diabetic Med* 1987; 4: 491-2.
- 18.- Gatling W, Knight C, Hill RD. *Screening for early diabetic nephropathy: which sample to detect microalbuminuria? Diabetic Med* 1985; 2: 451-5.
- 19.- Viberti GC, Hill RD, Jarrett RJ, Argyropoulos A, Mahmud U, Keen H. *Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet* 1982; i : 1430-2.
- 20.- Mathiesen ER, Oxenboll K, Johansen PAa, Svendsen PA, Deckert T. *Incipient nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes. Diabetologia* 1984; 26: 406-10.

- 21.- Mogensen CE, Christensen CK. *Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. N Engl J Med 1984; 311: 89-93.*
- 22.-Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DER, Brown DM, Goetz FC. *Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. J Clin Invest 1984; 74: 1143-55.*
- 23.- Parving H-H, Andersen AR, Smidt UM, Hommel E, Mathiesen ER, Svendsen PA. *Effect of antihypertensive treatment on kidney function in diabetic nephropathy. Br Med J 1987; 294: 1443-7.*
- 24.- Parving H-H, Hommel E. *Prognosis in diabetic nephropathy. Br Med J 1989; 299: 230-3.*
- 25.- Mathiesen ER, Borch-Johnsen K, Jensen DV, Deckert T. *Improved survival in patients with diabetic nephropathy. Diabetologia 1989; 32: 884-6.*
- 26.- The Kroc Collaborative Study Group. *Blood glucose control and the evolution of diabetic retinopathy and albuminuria. N Engl J Med 1984; 311: 365-72.*
- 27.- Feldt-Rasmussen B, Mathiesen ER, Deckert T. *Effect of two years of strict metabolic control on progression of incipient nephropathy in insulin-dependent diabetics. Lancet 1986; ii: 1300-4.*

28.- Dahl-Jorgensen K, Hanssen KF, Kierulf P, Bjoro T, Sandvik L, Aageraes O. *Reduction of urinary albumin excretion after 4 years of continuous subcutaneous insulin infusion in insulin-dependent diabetes mellitus. The Oslo study. Acta Endocrinol (Copenhagen) 1988; 117: 19-25.*

29.- Osterby R, Gundersen HJG, Nyberg G, Aurell M. *Advanced diabetic glomerulopathy. Quantitative structural characterisation of non-occluded glomeruli. Diabetes 1987; 36: 612-619.*

30.- Kohner E, Chahal PS. *Retinopathy in diabetic nephropathy (a preliminary report) En: Keen M, Legrain M, eds. Prevention and Treatment of Diabetic Nephropathy. Lancaster: MTP Press; 1983; 191-6.*

31.- Libertino JA, Zinman L, Salerno R, D'Elia J, Kaldany A, Weinrauch LA. *Diabetic renal transplantation. J Urol 1980; 124: 593-5.*

32.- Knussman MJ, Goldstein HH, Gleason RE. *The clinical course of diabetic nephropathy. J Am Med Assoc 1976; 236: 1861-3.*

33.- Borch-Johnsen K, Andersen KP, Deckert T. *The effect of proteinuria on relative mortality in Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1985; 28: 590-6.*

34.- *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.*

35.- *Nosadini R, Fioretto P, Trevisan R, Crepaldi G. Insulin-dependent diabetes mellitus and hypertension. Diabetes Care 1991; 14: 210-19.*

36.- *Deckert T, Poulsen JE. Diabetic nephropathy: fault or destiny? Diabetologia 1981; 21: 178-83.*

37.- *Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidence for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. N Engl J Med 1989; 320: 1161-5.*

38.- *Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Norgaard K, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B, Jensen T. Microalbuminuria: Implications for micro- and macrovascular disease. Diabetes Care 1992; 15: 1181-1191.*

39.- *Shimomura H, Spiro RG. Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetes: decreased levels of heparan sulfate proteoglycan and laminin. Diabetes 1987; 36: 374-381.*

40.- Dybdahl H, Ledet T. Diabetic macroangiopathy. Quantitative histopathological studies of the extramural coronary arteries from type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1987; 30: 882-886.

41.- Rosenzweig LJ, Kanwar YS. Removal of sulfated (heparan sulfate) or nonsulfated (hyaluronic acid) glucosaminoglycans results in increased permeability of the glomerular basement membrane to ¹²⁵I-bovine serum albumin. *Lab Invest* 1982; 47: 177-183.

42.- Castellot JJ, Hoover RL, Harpet PA, Karnovsky MJ. Heparin and glomerular epithelial cell-secreted heparin-like species inhibit mesangial-cell proliferation. *Am J Pathol* 1985; 120: 427-435.

43.- Pomerantz KB, Hajja DP. Eicosanoids in regulation of arterial smooth muscle cell phenotype, proliferative capacity and cholesterol metabolism. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 413-429.

44.- Cagliero E, Roth T, Roy S, Lorenzi M. Characteristics and mechanisms of high-glucose-induced overexpression of basement membrane components in cultured human endothelial cells. *Diabetes* 1991; 40: 102-110.

45.- Unger E, Pettersson I, Eriksson UJ, Lindahl U, Kjellen L. Decreased activity of the heparan sulfate modifying enzyme glucosaminyl N-deacetylase in hepatocytes from streptozotocin-diabetic rats. *J Biol Chem* 1991; 266: 8671-8674.

46.- Tarsio JF, Reger LA, Furcht LT. *Molecular mechanisms in basement membrane complications of diabetes: alterations in heparin, laminin, and type IV collagen association. Diabetes 1988; 37: 532-539.*

47.- Feldt-Rasmussen B, Mathiesen ER, Deckert T, Giese J, Christensen NJ, Bent-Hansen L, Nielsen MD. *Central role for sodium in the pathogenesis of blood pressure changes independent of angiotensin, aldosterone and catecholamines in Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1987; 30: 610-17.*

48.- Mathiesen ER, Ronn B, Jensen T, Storm B, Deckert T. *Relationship between blood pressure and urinary albumin excretion in development of microalbuminuria. Diabetes 1990; 39: 245-49.*

49.- Messent J. *Progression to microalbuminuria in normoalbuminuric type 1 (insulin-dependent) diabetic patients (Abstract). Diabetologia 1990; 33: 75.*

50.- Moss AJ. *Blood pressure in children with diabetes mellitus. Pediatrics 1962; 130: 932-36.*

51.- Cruickshanks KJ, Orchard TJ, Becker DJ. *The cardiovascular risk profile of adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes Care 1985; 8:118-24.*

52.- Kaas-Ibsen K, Rotne H, Hongaard P. *Blood pressure in children with diabetes mellitus. Acta Paediatr Scand 1983; 72: 191-96.*

53.- Kelleher C, Kingston SM, Barry DG, Cole MM, Feriss JB, Grealy G, Joyce C, O'Sullivan DJ. Hypertension in diabetic clinic patients and their siblings. *Diabetologia* 1988; 31: 76-81.

54.- Viberti GC, Keen H, Wiseman MJ. Raised arterial pressure in parents of proteinuric insulin dependent diabetics. *Br Med J* 1987; 295: 515-17.

55.- Pickering GW. *High blood pressure. 2d ed. London. J & A Churchill, 1968: 236-73.*

56.- Canessa M, Adragna N, Solomon HS, Connolly TM, Tosteson DC. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1980; 302: 772-6.

57.- Canessa ML, Morgan K, Semplicini A: Genetic differences in lithium-sodium exchange and regulation of the sodium-hydrogen exchanger in essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 12: s92-s98.

58.- Pandey GN, Sarkadi B, Haas M, Gunn RB, Davis JM, Tosteson DC. Lithium transport pathways in human red blood cells. *J Gen Physiol* 1978; 72: 233-47.

59.- Pandey GN, Dorus E, Davis JM, Tosteson DC. Lithium transport in human red blood cells: genetic and clinical aspects. *Arch Gen Psychiatry* 1979; 36: 901-8.

60.- Hasstedt SJ, Wu LL, Ash KO, Kuida H, Williams RR. Hypertension and sodium-lithium countertransport in Utah pedigrees: evidence for a major-locus inheritance. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 14-22.

61.- Aronson PS: Red cell sodium-lithium countertransport and essential hypertension (Letter). *N Engl J Med* 1982; 307: 317.

62.- Mahnensmith RL, Aronson PS. The plasma membrana sodium-hydrogen exchanger and its role in physiological and pathophysiological processes. *Circ Res* 1985; 56: 773-88.

64.- Grinstein S, Rohstein A. Mechanisms of regulation of the Na^+/H^+ exchanger. *J Membr Biol* 1986; 90: 1-12.

65.- Grinstein S, Rotin D, Mason MJ. Na/H exchange and growth factor-induced cytosolic pH changes: role in cellular proliferation. *Biochim Biophys Acta* 1989; 988: 73-97.

66.- Clubb FJ, Bell PD, Kriseman JD, Bishop SP. Myocardial cell growth and blood pressure development in neonatal spontaneously hypertensive rats. *Lab Invest* 1987; 56: 189-97.

67.- Morgan DB, Stewart AD, Davidson C. Relationships between erythrocyte lithium efflux, blood pressure and family history of hypertension and cardiovascular disease: studies in a factory work force and hypertension clinic. *J Hypertens* 1986; 4: 609-15.

68.- Weder AB. Red cell lithium-sodium countertransport and renal lithium clearance in hypertension. *N Engl J Med* 1986; 314: 198-201.

69.- Krolewski AS, Canessa M, Warram JH, Laffel LMB, Christlieb R, Knowler WC, Rand LI. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318: 140-5.

70.- Mangili R, Bending JJ, Scott G, Li LK, Gupta A, Viberti GC. Increased sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 1988; 318: 146-50.

71.- Walker JD, Tariq T, Viberti GC. Sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin dependent diabetes and nephropathy and their parents. *Br Med J* 1990; 301: 635-8.

72.- Jones SL, Trevisan R, Tariq T, Semplicini A, Mattock M, Walker JD, Nosadini R, Viberti GC. Sodium-lithium countertransport in microalbuminuric insulin-dependent diabetic patients. *Hypertension* 1990; 15: 570-5.

73.- Carr S, Mbanya JC, Thomas T, Keavey P, Taylor R, Alberti KGMM, Phil D, Path FRC, Wilkinson R. Increase in glomerular filtration rate in patients with insulin-dependent diabetes and elevated erythrocyte sodium-lithium countertransport. *N Engl J Med* 1990; 322: 500-5.

74.- Ng LL, Simmons D, Frighi V, Garrido MC, Bomford J, Hockaday TDR. Leucocyte Na^+/H^+ antiport activity in Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with nephropathy. *Diabetologia* 1990; 33: 371-77.

75.- Jensen JS, Mathiesen ER, Norgaard K, Hommel E, Borch-Johnsen K, Funder J, Brahm J, Parving H-H, Deckert T. Increased blood pressure and erythrocyte sodium/lithium countertransport activity are not inherited in diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1990; 33: 619-624.

76.- Elving LD, Wetzels JFM, de Nobel E, Berden JHM. Erythrocyte sodium-lithium countertransport is not different in Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1991; 34: 126-8.

77.- Gall MA, Rossing P, Jensen JS, Funder J, Parving H-H. Red cell Na^+/Li^+ countertransport in non-insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1991; 39: 135-40.

78.- Laffel L, Warram JH, Krolewski AS. Increased blood pressure and erythrocyte sodium/lithium countertransport activity are not inherited in diabetic nephropathy (Letters to the editor). *Diabetologia* 1991; 34: 452-54.

79.- Adragna N, Chang S, Morey M, Williams R. Effects of exercise on cation transport in human red cells. *Hypertension* 1985; 7: 132-139.

80.- Beuckelmann D, Meyer HD, Erdmann E. Sodium-lithium countertransport in human erythrocytes - effects of hypokalaemia, oral contraceptives and antihypertensive medication. *Klin Wochenschr* 1985; 63: 139-142.

81.- Beuckelmann D, Erdmann E. Exogenous factors influencing the human erythrocyte sodium-lithium countertransport. *Eur J Clin Invest* 1984; 14: 392-397.

82.- Logan AG, Soldin SJ, Ryan D. Alterations in red cell cation transport in hypertensive disorders of pregnancy. *Klin Wochenschr* 1985; 63 (Suppl III): 16-19.

83.- Sutterlin U, Gless KH, Schaz K, Hufner M, Schutz V, Hunstein W. Peripheral effects of thyroid hormones: alteration of intracellular Na-concentration, ouabain-sensitive Na-transport and Na-Li countertransport in human red blood cells. *Klin Wochenschr* 1984; 62: 598-601.

84.- Agam G, Hatzav P, Abekasis S, Loven A, Lione A. Elevated intracellular Ca^{++} affects lithium-sodium countertransport in human red cells. *Biochim Biophys Acta* 1987; 904: 207-215.

85.- Batuman V, Dreisbach A, Chun E, Naumoff M. Lead increases red cell lithium-sodium countertransport. *Am J Kidney Dis* 1989; 14: 200-203.

86.- Bosch RJ, Hernando N, Plaza JJ, Casado S, Lopez-Novoa JM. Renal transplantation and red blood cell sodium transport: role of prednisone treatment. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 6: 286-291.

87.- Ruiz-Gutiérrez V, Stiefel P, Villar J, García-Donas MA, Acosta D, Carneado J. Cell membrane fatty acid composition in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: relationship with sodium transport abnormalities and metabolic control. *Diabetologia* 1993; 36: 850-856.

88.- Jones SL, Close CF, Mattock MB, Jarrett RJ, Keen H, Viberti GC. Plasma lipid and coagulation factor concentrations in insulin dependent diabetics with microalbuminuria. *Br Med J* 1989; 298: 487-90.

89.- Carr SJ, Thomas TH, Laker MF, Wilkinson R. Elevated sodium-lithium countertransport: a familial marker of hyperlipidaemia and hypertension? *J Hypertens* 1990; 8: 139-146.

90.- Carr SJ, Thomas TH, Laker MF, Wilkinson R. Lipid lowering therapy leads to a reduction in sodium-lithium countertransport activity. *Atherosclerosis* 1991; 87:103-8.

91.- Trevisan R, Nosadini R, Fioretto P, Semplicini A, Donadon V, Doria A, Nicolosi GL, Zanuttini D, Cipollina MR, Lusiani L, Avogaro A, Crepaldi G, Viberti GC. Clustering of risk factors in hypertensive insulin-dependent diabetics with high sodium-lithium countertransport. *Kidney Int* 1992; 41:855-861.

92.- Lopes de Faria JB, Jones SL, MacDonald F, Chambers J, Mattock MB, Viberti GC. Sodium-lithium countertransport activity and insulin resistance in normotensive IDDM patients. *Diabetes* 1992; 41: 610-615.

93.- Elving LD, Wetzels JFM, De Pont JJHBM, Berden JHM. Is increased erythrocyte sodium-lithium countertransport a useful marker for diabetic nephropathy? *Kidney Int* 1992; 41: 862-871.

94.- Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein: an index of diabetic control. *Clin Chim Acta* 1982; 127: 87-95.

95.- Kattermann R, Jaworek D, Möller G. Multicentre study of a new enzymatic method of cholesterol determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 245-251.

96.- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.

97.- Ibsen KK, Jensen JA, Wieth JO, Funder J. Essential hypertension: Sodium-lithium countertransport in erythrocytes from patients and from children having one hypertensive parent. *Hypertension* 1982; 4: 703-709.

98.- Trevisan M, Laurenzi M. Correlates of sodium-lithium countertransport. Findings from the Gubbio Epidemiological Study. *Circulation* 1991; 84: 2011-2019.

99.- Hunt SC, Stephenson SH, Hopkins PN, Hasstedt SJ, Williams RR. A prospective study of sodium-lithium countertransport and hypertension in Utah. *Hypertension* 1991; 17: 1-7.

100.- Mangili R, Zerbini G, Barlassina C, Cusi D, Pozza G. Sodium-lithium countertransport and triglycerides in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1993; 44: 127-133.

101.- Trevisan M, Strazzullo P, Cappuccio FP, Farinaro E, Jossa F, Krogh V, Iacone R, Mancini M. Sodium-lithium countertransport and body fat distribution. *Life Sci* 1992; 51: 687-693.

102.- Catalano C, Winocour PH, Thomas TH, Walker M, Sum CF, Wilkinson R, Alberti KGMM. Erythrocyte sodium-lithium countertransport activity and total body insulin-mediated glucose disposal in normoalbuminuric normotensive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1993; 36: 52-56.

103.- Rutherford PA, Thomas TH, Carr SJ, Taylor R, Wilkinson R. Kinetics of sodium-lithium countertransport activity in patients with uncomplicated type 1 diabetes. *Clin Sci* 1992; 82: 291-299.

104.- Rota R, Timsit J, Hannedouche T, Ikeni A, Boitard C, Guicheney P. Erythrocyte Na^+/Li^+ countertransport and glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetics. *Am J Hypertens* 1993; 6: 534-537.

105.-Lopes de Faria JB, Friedman R, Tariq T, Viberti GC. Prevalence of raised sodium-lithium countertransport activity in type 1 diabetic patients. *Kidney Int* 1992; 41: 877-882.

106.- Trevisan M, Ostrow D, Cooper RS, Sempos C, Stamler J. Sex and race differences in sodium-lithium countertransport and red cell sodium concentration. *Am J Epidemiol* 1984; 120: 537-541.

107.- Turner ST, Johnson M, Boerwinkle E, Richelson E, Taswell HF, Sing CF. Sodium-lithium countertransport and blood pressure in healthy blood donors. *Hypertension* 1985; 7: 955-962.

108.- Laurenzi M, Trevisan M. Gubbio Study Research Group: Sodium-lithium countertransport and blood pressure: The Gubbio Population Study. *Hypertension* 1989; 13: 408-415.

109.- Rutherford PA, Thomas TH, Carr SJ, Taylor R, Wilkinson R. Changes in erythrocyte sodium-lithium countertransport kinetics in diabetic nephropathy. *Clin Sci* 1992; 82: 301-307.

110.- Carr SJ, Thomas TH, Wilkinson R. Erythrocyte sodium-lithium countertransport in primary and renal hypertension: Relation to family history. *Eur J Clin Invest* 1989; 19: 101-106.

111.- Yap L, Arazola A, Soria F, Diez J. Is there increased cardiovascular risk in essential hypertensive patients with abnormal kinetic of red blood cell sodium-lithium countertransport? *J Hypertens* 1989; 7:667-673.

112.- Hunt SC, Williams RR, Ash KO. Changes in sodium-lithium countertransport correlate with changes in triglyceride levels and body mass index over 2½ years of follow-up in Utah. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4 (Suppl. 2): 357.

113.- Krzesinski JM, Saint-Remy A, Du F, Rorive G. Red blood cell Na-Li countertransport, hypertensive heredity, and cardiovascular risk in young adults. *Am J Hypertens* 1993; 6: 314-316.

114.- Barzilay J, Warram JH, Bak M, Laffel LMB, Canessa M, Krolewski AS. Predisposition to hypertension: risk factor for nephropathy and hypertension in IDDM. *Kidney Int* 1992; 41: 723-730.

115.- Trevisan R, Li LK, Messent J, Tariq T, Earle K, Walker JD, Viberti GC. Na^+/H^+ antiport activity and cell growth in cultured skin fibroblasts of IDDM patients with nephropathy. *Diabetes* 1992; 41: 1239-1246.

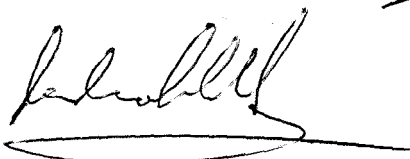
FEDERICO RELIMPIO ASTOLFI
Actividad contrahormonal sodio-LiHo
en diabetes tipo I de corta evolución.

APTO CUM LAUDE

25

Mayo.

94



Ricardo Astolfi

