

S U M A R I O



ORIGINALES

Estudio del crecimiento dental en la rata diabética no tratada a partir de un mes de edad
J.J. Cabrera Galván, H. Izaguirre Espinoza, P. Saavedra Santana (pág. 127)

Evaluación de un nuevo medidor de glucosa en sangre
I. Lluch, M.L. Gil, P. Martínez, J. Tébar (pág. 133)

Estudio del número y pureza de islotes pancreáticos de rata, en fresco y en cultivo, en más de 500 aislamientos
R. del Río Valtierra, M.L. Soto Montenegro, S. Alvarez Gómez, B. Martínez Valenzuela, A. Arranz Martín, M.C. Martín-Scapa, A. Jara Albarrán (pág. 139)

Effects of furosemide on glucose homeostasis and serum biochemistry
R. López, C. Taboada, A. San Miguel (pág. 144)

Comparación de tres métodos de detección de polineuropatía diabética
M.A. Vicente, A. Izusquiza, I. Goicolea, J.A. Vázquez (pág. 149)

Concentraciones séricas de apolipoproteínas A1 y B en diabéticos: Influencia de la hipertensión y microalbuminuria
M. Tagle Luzárraga (pág. 153)

Automonitorización glucémica y control metabólico en el diabético adulto: Estudio de coste-beneficio
I. Goicolea, Y. Alonso, G. Villar, Y. García, J.A. Vázquez (pág. 158)

INDICE DE AUTORES (pág. 164)

INDICE DE MATERIAS (pág. 164)

Avances en Diabetología

ÓRGANO DE EXPRESIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Vol. 13 Núm. 4

Octubre-Diciembre 1997

EDITOR JEFE

José Enrique Campillo Alvarez, Badajoz

COMITÉ EDITORIAL

Federico Casimiro-Soriger Escofet, Málaga
Eduardo Faure Nogueras, Zaragoza

Juan Emilio Feliú Albiñana, Madrid
Ramón Gomis de Bárbara, Barcelona

Pedro Martul Tobio, Bilbao
Bernat Soria Escoms, Alicante

COMITÉ ASESOR

Jaime Antona, Madrid
Pablo Aschner Montoya, Bogotá
José J. Barbosa, Minneapolis
Michael Berger, Düsseldorf
Enrique Blázquez Fernández, Madrid
José Cabezas, Santiago de Compostela
Rolando H. Calderón, Lima
Consuelo Calle, Madrid
José Caro, Greenville
Hermenegildo de la Calle, Madrid
Alberto de Leiva, Barcelona

Francisco Díaz Cadorniga, Oviedo
Santiago Durán, Sevilla
Arturo Fernández Cruz, Madrid
Julio Freijanes, Santander
Frederic Goetz, Minneapolis
Ira D. Goldfine, San Francisco
Ricardo Güel, La Habana
Juan José Gagliardino, La Plata
José Luis Herrera Pombo, Madrid
Pierre J. Lefebvre, Lieja
José Luis Medina, Oporto

José Moreiro, Palma de Mallorca
Ingrid Mühlhauser, Düsseldorf
Luciano Muñoz Barragán, Salamanca
Neus Potau, Barcelona
José María Pou, Barcelona
José Luis Rodríguez-Miñón, Madrid
Enrique Rojas Hidalgo, Madrid
Maximino Ruiz, Buenos Aires
Manuel Serrano Ríos, Madrid
Isabel Valverde, Madrid
José Antonio Vázquez, Bilbao

JUNTA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Presidente

José Luis Herrera Pombo, Madrid

Vicepresidente 1º

Fernando Escobar, Granada

Vicepresidente 2º

Juan Francisco Ascaso, Valencia

Secretario

Adela Rovira, Madrid

Vicesecretario

Ricardo Chamorro, Ciudad Real

Tesorero

Francisco Javier Tebar, Murcia

Bibliotecario

Albert Goday, Barcelona

Vocales

Manuel Aguilar, Cádiz

Luis Castaño, Bilbao

Rosa Corcoy, Barcelona

Juan José Barbería, Pamplona

EDICIONES ERGON S.A.

Arboleda, 1 - 28220 Majadahonda (Madrid)

Tel. (91) 636 29 30 - Fax (91) 636 29 31

ergon@ergon.es



Publicación trimestral

Depósito Legal: M-17915-1988

ISSN: 1134-3230

Copyright 1998

Sociedad Española de Diabetes

Ediciones Ergon S.A.

Impreso en papel libre de ácido

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES

INFORMACIÓN GENERAL

Avances en Diabetología publica artículos de interés clínico o experimental relacionados con la investigación diabetológica o de campos afines a ella, en castellano y preferentemente en inglés. Los artículos serán considerados por el Comité Editorial y por los evaluadores que éste considere oportunos, de acuerdo con los siguientes tipos de publicaciones:

Artículos originales, que no excedan de ocho hojas impresas o un máximo de 7.000 palabras que incluyan texto, bibliografía, tablas y figuras.

Comunicaciones rápidas, con un máximo de dos páginas impresas o 1.700 palabras incluyendo texto, bibliografía y dos ilustraciones (tablas o figuras).

Cartas al Editor, que no excedan de una página o 1.000 palabras, incluyendo texto, bibliografía y una ilustración (tabla o figura).

Artículos de Revisión, que serán solicitados por el Editor a aquellos especialistas que por sus conocimientos y experiencia puedan proporcionar ideas de conjunto o puntos sobre temas de actualidad o de gran interés general.

Avances en Diabetología, no publicará trabajos que hayan sido impresos con anterioridad o que simultáneamente estén siendo considerados para algún tipo de publicación. Original y dos copias de los artículos (incluyendo tablas y figuras) se enviarán a la siguiente dirección:

Dr. José Enrique Campillo Alvarez, Editor de Avances en Diabetología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, 06071 Badajoz. Los manuscritos deben ser mecanografiados a doble espacio sobre una carilla de la hoja y con un margen de 3 cm. en la parte izquierda de la misma.

Los artículos deberán ir acompañados de una carta firmada por uno de los autores en la que testifique que los demás coautores del trabajo están de acuerdo con su publicación en la forma y contenido enviado al Editor.

INFORMACIÓN ESPECIFICADA PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

La primera página del manuscrito constará del título del trabajo, nombres de los autores (nombre y primer apellido completos) y de la institución donde se ha realizado. Asimismo, se incluirá un título reducido para imprimir en la cabecera de las hojas interiores del artículo.

En la segunda página se incluirá el resumen, que no excederá de 250 palabras y en el que se des-

cribirán de una forma clara y concisa los estudios realizados, hallazgos fundamentales y conclusiones alcanzadas. Al final del resumen se incluirán de 5 a 10 palabras claves, que definan la temática fundamental del trabajo. También se incluirá una traducción del resumen en lengua inglesa.

A partir de la tercera página, el artículo se describirá de acuerdo con los siguientes apartados:

Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Bibliografía. En la introducción se describirán de una forma clara las razones por las cuales se ha realizado el trabajo, evitando comentarios acerca de los hallazgos y conclusiones obtenidas. Los Materiales y Métodos utilizados se presentarán de forma que puedan ser reproducidos por otros investigadores. Los Resultados no podrán presentarse simultáneamente en una tabla y una figura y se describirán de forma clara, pero sin comentarios o discusiones de ellos. Cuando se considere oportuno, podrá indicarse al Editor en qué lugar se deben reproducir las tablas o figuras, mediante una indicación en el margen correspondiente del manuscrito. En la Discusión se deberán interpretar los resultados en función de los conocimientos propios del campo científico objeto del trabajo, evitándose las especulaciones o la repetición de los descritos en los Resultados. La conclusión final deberá incluirse en el párrafo final del manuscrito. Los Resultados y Discusión pueden presentarse juntos, especialmente en las Comunicaciones Rápidas.

BIBLIOGRAFÍA

Las referencias deben ser numeradas consecutivamente en el mismo orden que han sido citadas en el manuscrito. Cuando las referencias se citen primero en las tablas o figuras deben ser numeradas, respetándose este orden en relación con las que se citen con posterioridad en el texto. El estilo y presentación de las referencias debe estar de acuerdo con el utilizado por el Index Medicus. Como ejemplo de ellas citamos las siguientes:

1. Wolff JA, Yee JK, Skelly HF, Moores JC, Respass JG, Friedmann T, Leffer H. Expression of retrovirally transduced genes in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 3344-3348.
2. Moody AJ, Thim L. Glucagon, gly cetin and related peptides. In: Lefebvre PJ, ed. *Glucagon*, Berlín: Springer Verlag, 1983; **1**: 139-174.
3. Leyva A. Caracterización de los estados precoces de las diabetes mellitus. *Av Diabetol* 1988; **1**: 39-53.

No se aceptarán citas relacionadas con: comunicaciones personales, datos no publicados, manus-

critos en preparación o enviados para su publicación. No obstante, si se considera esencial, ese material se puede incluir en el lugar apropiado del texto, detallando su interés y contenido.

TABLAS

Las tablas se mecanografiarán a doble espacio, en páginas separadas e identificables con números arábigos. Cada una de ellas debe poseer su correspondiente leyenda. Se recomienda la presentación de un número elevado de datos.

ILUSTRACIONES

Las figuras deben ser diseñadas profesionalmente y presentadas como fotografías en blanco y negro. Los símbolos, letras y números deberán tener un trazado continuo y claro y con un tamaño lo suficientemente grande para que sea legible después de la reducción correspondiente a su incorporación en las páginas de la revista. Si se utilizan fotografías de pacientes debe ser evitada su identificación. Las leyendas de las ilustraciones deben mecanografiarse a doble espacio, en una hoja aparte.

Excepcionalmente se publicarán ilustraciones en color, y cuando esto ocurra los costos para su reproducción correrán a cargo de los autores.

ABREVIACIONES

Excepto para las unidades de medida, no se aconseja el uso de las abreviaciones. Sin embargo, en el caso de que se utilicen, la primera vez que se citen, deben ir precedidas de las palabras que representan.

DENOMINACIONES PARA DROGAS

En general se deben utilizar los nombres genéricos, pero si los autores lo desean pueden insertar en paréntesis y a continuación los nombres comerciales.

AUTORIZACIONES

En aquellos casos en que se utilicen materiales procedentes de otras publicaciones, éstos se deben acompañar del permiso, escrito de su autor y de la Editorial correspondiente, autorizando su reproducción en nuestra revista.

REVISIÓN DE LOS ARTÍCULOS

Los manuscritos serán revisados por el Comité Editorial y evaluadores/as anónimos/as. Si un artículo enviado a los autores para su modificación, no se recibe en la Editorial en un período de tres meses, se considerará a su llegada como un nuevo manuscrito.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

GENERAL INFORMATION

Avances en Diabetología publishes articles of clinical or experimental interest related to research on diabetology or similar fields. Articles will be examined by the Editorial Boards and referees that the Board considers to be appropriate on the basis of the following kind of publications:

Original Articles, not exceeding eight printed pages, or 7.000 words including text, literature cited, and two illustrations (Tables and Figures).

Short Communications, not exceeding two printed pages, or 1.700 words including text, literature cited and illustrations (Tables and Figures).

Letters to the Editor, not exceeding one page or 1.000 words including text, literature cited and one illustration, (Table or Figure).

Review articles, requested by the Editor from workers considered experts in the fields that are able to provide ideas or points on current topics of relevance.

Avances en Diabetología will not publish papers previously published or under consideration for publication. An Original and two copies should be set to:

Dr. José Enrique Campillo Alvarez, Editor of "Avances en Diabetología", Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, 06071 Badajoz. Manuscripts should be typed double space on one side only of the sheets with a margin of 3 cm at the left. Articles should be accompanied by a cover letter from the one of the authors to the effect that the coauthors agree to its publication regarding the form and contents sent to the Editor.

SPECIFIC INFORMATION REGARDING PREPARATION OF THE ARTICLES

The first page of the article should specify the title of the work, the authors' names (name and surname) and the institution where the work has been carried out. A running title should also appear at the top of all pages of the m.s.

The second page should include a summary in Spanish and English of not more than 250 words, clearly and concisely describing the work carried

out, the main results and the conclusions inferred. Following this should appear 5-10 key words related to the principal topics of the work.

The third page should start the text of the m.s. developed as follows: Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion, and Literature Cited. The introduction should clearly describe the reasons for conducting the research, avoiding details of concerning the results and conclusions. Materials and Methods should be described in such a way that they can be reproduced by other workers. Results should not be repeated in tables and figures and should be clear enough to avoid discussions or comments. If considered appropriate, the Editor should be informed as to whether the authors feel the figures or tables should appear in the work in the margin of the m.s.

The Discussion should offer an interpretation of the results according to knowledge related to the field of work, but avoiding speculations or repetition of what has appeared in the Results section. The final conclusions should be summarized in the last paragraph of the paper.

The sections on Results and Discussion can be combined, specially in the case of short communications.

LITERATURE CITED

The references should be numbered consecutively in the same order as they appear in the text. When they are cited for the first time in the tables or figures, they should be numbered and their order should be respected in subsequent references in the text. The style and presentation of the references should be in accordance with those used in *Index Medicus*; the following are examples:

1. Wolff JA, Yee JK, Skelly HF, Moores JC, Respass JG, Friedmann T, Leffer H. Expression of retrovirally transduced genes in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 3344-3348.
2. Moody AJ, Thim L. Glucagon, gly cetin and related peptides. In: Lefebvre PJ, ed. *Glucagon*, Berlín: Springer Verlag, 1983; **1**: 139-174.

3. Leyva A. Caracterización de los estados precoces de las diabetes mellitus. *Av Diabetol* 1988; **1**: 39-53.

TABLES

The tables should be drafted double space on separate pages and identified in arabic numbers. Each table should be accompanied by its corresponding legend. A high number of data is recommended.

ILLUSTRATIONS

Figures should be presented professionally and presented in the form of black and white photographs. Symbols, letters and numerals should be continuous and clear and sufficiently large for easy reading after the corresponding size reduction prior to reproduction. If photographs of patients are used the latter should be unrecognizable. Legends to the illustrations should be typed double space on a separate sheet. Exceptionally, colour illustrations will be published; the cost of these will be charged to authors.

ABBREVIATIONS

Except in the case of units of measurement, abbreviations should be avoided. However, where they are preferred they should appear preceded by the full name.

NAMES OF DRUGS

In general the generic name should be used although, if so desired, to use the commercial name in brackets just after this.

AUTHORIZATION

If authors wish to use material from other publications, this should be accompanied by written consent from the original author and Editorial Board to do so.

REFEREEING OF ARTICLES

The m.s. will be reviewed by the Editorial Board and anonymous referees. If a paper returned for amendments is not received within three months of its return date it will be considered as a new m.s.

Avances en Diabetología

ORGANO DE EXPRESION DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Vol. 13 Núm. 4

Octubre-Diciembre 1997

SUMARIO

ORIGINALES

Estudio del crecimiento dental en la rata diabética no tratada a partir de un mes de edad <i>J.J. Cabrera Galván, H. Izaguirre Espinoza, P. Saavedra Santana</i>	127
Evaluación de un nuevo medidor de glucosa en sangre <i>I. Lluch, M.L. Gil, P. Martínez, J. Tébar</i>	133
Estudio del número y pureza de islotes pancreáticos de rata, en fresco y en cultivo, en más de 500 aislamientos <i>R. del Río Valtierra, M.L. Soto Montenegro, S. Alvarez Gómez, B. Martínez Valenzuela, A. Arranz Martín, M.C. Martín-Scapa, A. Jara Albarrán</i>	139
Effects of furosemide on glucose homeostasis and serum biochemistry <i>R. López, C. Taboada, A. San Miguel</i>	144
Comparación de tres métodos de detección de polineuropatía diabética <i>M.A. Vicente, A. Izusquiza, I. Goicolea, J.A. Vázquez</i>	149
Concentraciones séricas de apolipoproteínas A1 y B en diabéticos: Influencia de la hipertensión y microalbuminuria <i>M. Tagle Luzárraga</i>	153
Automonitorización glucémica y control metabólico en el diabético adulto: Estudio de coste-beneficio <i>I. Goicolea, Y. Alonso, G. Villar, Y. García, J.A. Vázquez</i>	158
INDICE DE AUTORES	164
INDICE DE MATERIAS	164

Estudio del crecimiento dental en la rata diabética no tratada a partir de un mes de edad

J.J. Cabrera Galván, H. Izaguirre Espinoza, P. Saavedra Santana

Departamento de Morfología.

Unidad de Anatomía Patológica.

Unidad de Estadística. Facultad de Medicina.

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Correspondencia: Dr. Hugo Izaguirre Espinoza, C/ Brasil 7, 35005 Las Palmas de Gran Canaria.

Aceptado: Diciembre 1997

RESUMEN: Se realiza un trabajo experimental para estudiar desde el punto de vista estadístico los posibles efectos que ejerce la diabetes no tratada en ratas jóvenes sobre el crecimiento del incisivo central inferior. Se utilizaron 123 animales de los cuales 32 fueron controles. De los 91 animales a los que se inyectó estreptozotocina, 43 adquirieron el estado diabético. El procedimiento consistió (tras sacrificar al animal, tanto diabético como control, en los períodos de 1 mes + 2 semanas, 1 mes + 4 semanas, 1 mes + 6 semanas y 1 mes + 8 semanas) en extraerles la mandíbula y realizar una radiografía de una hemimandíbula. En la radiografía, con el programa Image-Pro, medimos el área y la longitud del diente. Tras el estudio estadístico las gráficas obtenidas muestran la evolución del área y la longitud del incisivo central inferior de los animales diabéticos y controles durante el estudio, detectándose que las ratas diabéticas muestran un menor crecimiento en los grupos 2 (1 m + 4 s) y 3 (1 m + 6 s), el cual se estabiliza y decrece entre los grupos 3 y 4 (1 m + 8 s), siendo estadísticamente significativa y muy significativa esta disminución de tamaño. Consideramos nuestros resultados como indicativos de un claro entretimiento metabólico que desnaturaliza e incapacita los tejidos para alcanzar un desarrollo acorde con la edad.

PALABRAS CLAVE: Diabetes experimental; Crecimiento dental.

ABSTRACT: *The present work is aimed at studying statistically, the possible effects of untreated diabetes on the growth of lower incisor on rats, from the age of one month. Two test groups were set out, one of normal rats and the other of rats induced with chemical diabetes, utilizing for this purpose a wide spectrum antibiotic with diabetogenic properties called streptozotocina. A week after administering the substance, glycemia is measured, the process is deemed effective when the glycemia level is equal or greater than 250 mg. The animals that did not respond were put down.*

The animals were divided into four age groups: One month plus two weeks, one month plus four weeks, one month plus six weeks and one month plus eight weeks, indicating with this division the moment in which to put down the rat to obtain the samples. A resolution of glycemia is taken, and the size and weight of the animals, before anesthetising them in an ether hood. By means of an arched submaxillary incision the mandible is extracted. Once the material is obtained from the diabetic and control rats, the mandible is divided into its two component parts, separating them in the symphysis. We took a radiography picture of the hemimandible. The statistical research was carried out based on the mandibular radiographies which had been taken. By means of the Image-Pro program we measured the area and length of the lower incisor, the data obtained both from the diabetic animals and from the control group, in the different periods of slaughtering, was processed by Varianza and T test analysis. Statistically we found a delay in the growth of the lower incisor in the diabetic rat from the second period of slaughter (1 M + 6 S) which is significant, being very significant the lowest dental size in the oldest diabetic group (1 M + 8 S).

KEY WORDS: Diabetes; Research study; Dental growth.

INTRODUCCIÓN

La diabetes, tanto en el hombre como en animales de experimentación, parece tener una clara influencia sobre el crecimiento de los tejidos debido a los cambios metabólicos condicionados por la hiperglicemia⁽¹⁴⁾. Esta afectación metabólica incide directamente sobre el tejido conectivo^(1, 15, 18, 20, 21).

Por lo que respecta a la estructura

dentaria y al periodonto, el tejido conectivo juega un papel importante en su desarrollo y constitución. Así, en el diente, la dentina tiene un 20% de materia orgánica y el resto es sustancia inorgánica o mineral⁽²¹⁾. El 92% de la parte orgánica es colágeno⁽¹⁾, mientras que la mayor parte de los componentes inorgánicos están en forma de cristales de hidroxapatita^(20, 21) que, al decalcificar el diente en medios ácidos, sólo

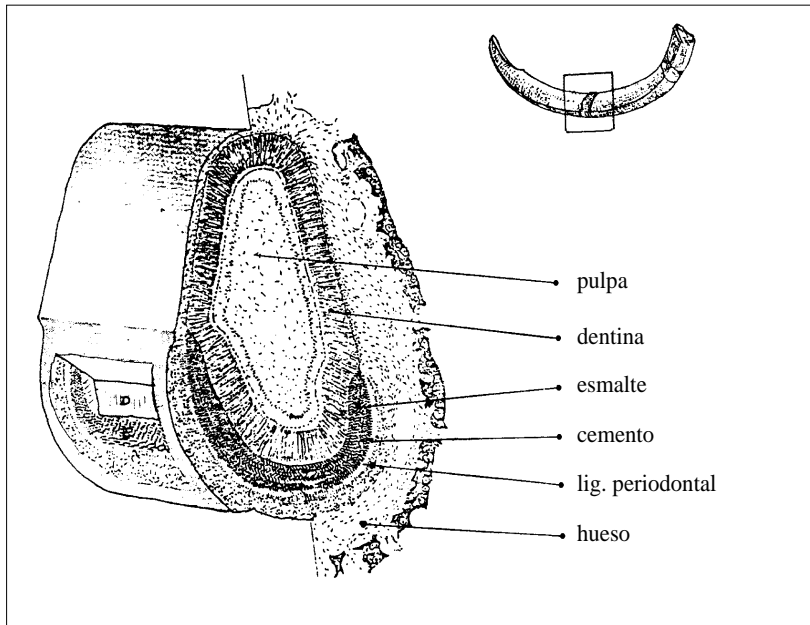


Figura 1. Esquema del incisivo inferior de la rata.

permanece la parte orgánica. Además, entre los túbulos de la dentina hay haces de fibrillas colágenas que se corresponden con las que se encuentran alrededor del hueso maxilar.

En la figura 1, de forma esquemática, mostramos los diferentes componentes de un diente. La dentina se forma continuamente a lo largo de la vida y por ello la cavidad pulpar se va estrechando progresivamente con la edad. La pulpa también está constituida por tejido conjuntivo y en el adulto tiene abundante cantidad de sustancia fundamental gelatinosa y metacromática, semejante al tejido conjuntivo mixoide.

El cemento, que cubre la mayor parte de la raíz, es una sustancia groseramente fibrilar parecida al hueso, que no tiene de ordinario ni canales ni vasos sanguíneos, estando constituida por una matriz orgánica formada por los cementocitos⁽¹⁾.

Asimismo, la membrana periodontica difiere del periostio ordinario por

carecer de fibras elásticas pero está formada, en parte, por gruesos haces colágenos que van desde la pared alveolar al cemento de la raíz⁽¹³⁾.

Por último, en la mandíbula el hueso está formado por una parte esponjosa entre dos capas de hueso cortical. El hueso alveolar es muy lábil y constituye un depósito fácilmente movilizable de calcio que interviene en el mantenimiento de la calcemia. Durante el desarrollo y período de estado, el hueso alveolar experimenta cambios de resorción y de formación o remodelación de acuerdo con las necesidades de adaptabilidad fisiológicas. Se han descrito, como una complicación crónica de la diabetes, cambios en las proteínas del tejido colágeno conectivo como resultado de un defecto metabólico⁽¹⁹⁾ y una disminución relativa de la producción de colágeno, que según Schneir⁽²²⁾ se podría deber a una menor síntesis y a una degradación intracelular aumentada de esta sustan-

cia. Ya hemos señalado anteriormente la importancia que el colágeno tiene en la estructura periodontal y en el hueso alveolar. Así, la osteopenia con desmineralización y atrofia de la porción conectiva ósea son comunes en el hombre y en algunos animales diabéticos. La diabetes, por lo tanto, disminuye los índices de depósito osteoide y la maduración y mineralización óseas, lo que no puede ser explicado solamente por una pérdida de peso global coincidente con la enfermedad⁽³⁻⁵⁾.

Con el fin de estudiar la influencia que la diabetes experimental parece tener sobre el tejido conectivo y sobre el crecimiento y desarrollo dentario, realizamos este trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos utilizado ratas machos Sprague-Dawley, en un total de 123 animales, de las cuales se utilizaron 32 como controles. Al mes de vida y tras determinación de la glucemia, se procedió a diabetizarlas. Se hicieron cuatro grupos de cinco ratas, tanto diabéticas como de control, de edades comprendidas entre 1 mes y 2 semanas, 1 mes y 4 semanas, 1 mes y 6 semanas y 1 mes y 8 semanas. Los animales fueron sacrificados al completar estos períodos.

La inducción a la diabetes química se hizo mediante la estreptozotocina a una dosis media de 80 mg/kg de peso.

Posteriormente, se dejaron los animales con alimentación habitual y bebiendo agua saturada con azúcar, durante las 24 horas siguientes, para contrarrestar la liberación masiva de insulina. Los animales fueron mantenidos en jaulas metálicas, permane-



Figura 2. Radiografía de la hemimandíbula de la rata.

ciendo con luz artificial durante 12 horas y en oscuridad las restantes. Tanto los grupos diabéticos como no diabéticos, dispusieron de comida y agua «ad libitum».

La glucemia se determinó a la semana, tras la inducción y posteriormente antes del sacrificio, mediante una tira reactiva BM-Test-Glycémie 20-800 R.

La medida de talla y peso se realizó antes del sacrificio.

Los animales fueron sacrificados y se les extrajo la mandíbula mediante una incisión arqueada entre ambos ángulos mandibulares. Tras la extracción de las muestras, se realizó una radiografía con película intraoral Kodak Ultraspeed DF-58. Colocamos la placa a 7 cm del extremo más distal del tubo (Fig. 2), con la hemimandíbula en la cara fotosensible de la misma y realizamos un disparo de 0,2 segundos.

Se hizo un estudio estadístico y morfométrico con el fin de determinar la influencia que la diabetes tiene sobre el desarrollo del incisivo inferior de la rata a partir del mes de nacida.

Sobre el material radiográfico se realizó un estudio morfométrico con un

programa para análisis de imagen denominado Image-Pro Imagen Processing System de Media Cybernetics Inc. Se analizó la imagen del incisivo inferior de la rata mediante un contorneado (Fig. 3), delimitando la superficie del área y la longitud del diente en milímetros (Fig. 4).

Para cada grupo y período, se calculó la media y desviación estándar del área dental, representando sobre un mismo gráfico los puntos correspondientes a las áreas dentales en cada grupo y a lo largo de los cuatro períodos considerados. De acuerdo con los gráficos, hemos ajustado el crecimiento del área dental en el grupo control por una recta de regresión. Sin embargo, tal ajuste no es oportuno en el grupo de diabéticas. Hemos comparado en cada período la distribución del área dental entre ambos grupos mediante el test de Wilcoxon para dos muestras independientes. Hemos realizado los cálculos con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) de SAS Institute⁽¹¹⁾.

RESULTADOS

Se utilizaron 123 animales, de los cuales 32 fueron controles. De los 91 animales a los que se inyectó estreptozotocina, murieron 48 (54%) y 43 adquirieron el estado diabético, de los cuales seleccionamos 21 por mantener cifras de glucemia superiores a 300 mg durante el estudio. Los restantes animales fueron eliminados del trabajo.

La media de los pesos y tallas en los diferentes grupos de tratamiento, varió según el tiempo de duración del mismo, observándose que la diferencia entre los grupos diabético y control, en



Figura 3. Delimitación del área del diente en la radiografía.



Figura 4. Determinación del área y longitud del diente.

las diversas edades, siempre fue menor en los primeros. La talla de los animales diabéticos creció en un percentil menor de forma proporcionada hasta el grupo de animales de un mes más seis semanas, en el que se observó una ligera inflexión con leve incremento del peso. En relación al peso de los animales diabéticos, éste fue creciendo en menor percentil en relación a los controles, detectándose una inflexión en el grupo de un mes más cuatro semanas, que incrementó moderadamente su

peso hasta estabilizarse en el grupo de edad siguiente (un mes más seis semanas), el cual creció en un percentil mayor a los grupos anteriores (Fig. 5).

En la tabla I se muestran los resultados correspondientes al área de los incisivos estudiados y obtenidos por métodos morfométricos para cada grupo y período, considerando el tamaño muestral, la media y la desviación estándar de la misma.

Por otra parte, en el gráfico de crecimiento dental (Fig. 6) mostramos la evolución del área del incisivo inferior de los animales diabéticos y controles durante el estudio, detectándose que las ratas diabéticas muestran un crecimiento menor entre las cuatro y seis semanas, el cual se estabiliza y decrece entre las seis y ocho semanas.

Para el grupo control, la recta de regresión obtenida es:

$$(\text{Area}) = 39,13 + 5,57 (\text{período})$$

donde los valores del período van de uno a cuatro. El coeficiente de correlación obtenido es $R = 0,93$.

COMPARACIÓN DE LAS DISTRIBUCIONES DE LAS AREAS DENTALES

En cada período, hemos comparado las distribuciones del área dental de ambos grupos mediante el test de Wilcoxon para muestras independientes. Los resultados se resumen en la tabla II.

En esta tabla, W representa el estadístico de Wilcoxon, Z su aproximación normal, y P la significación estadística a dos colas. Por tanto, a partir del tercer período (1 M + 6 S), es significativamente menor el área dental en las ratas diabéticas.

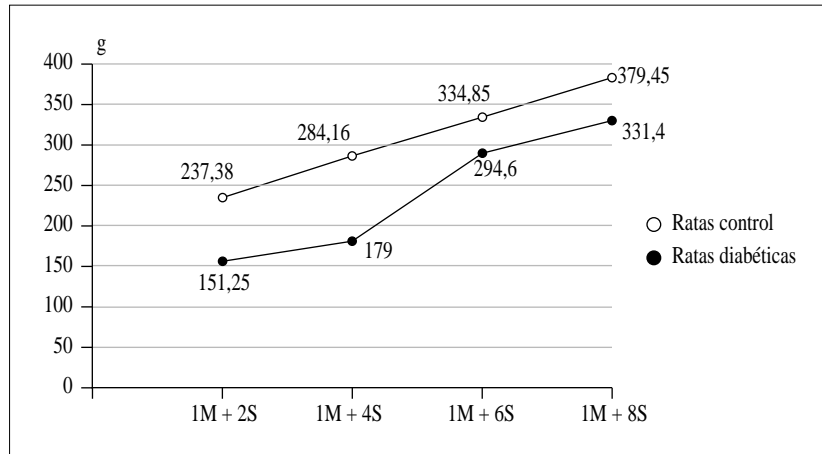


Figura 5. Curva evolutiva del peso en las diferentes edades.

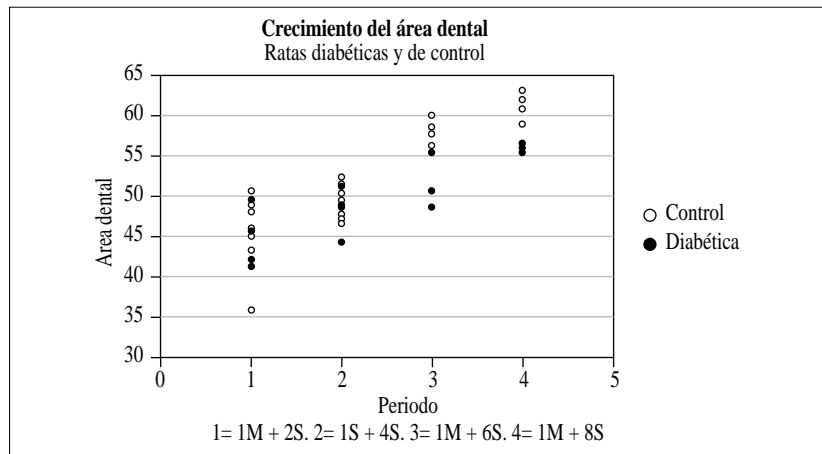


Figura 6. Curva de crecimiento dental en las diferentes edades.

DISCUSIÓN

En la literatura consultada por nosotros, incluida la que estudia la diabetes en la infancia y adolescencia, no aparece ninguna referencia concreta al desarrollo dentario, ni en clínica humana ni experimentalmente.

Son significativos los trabajos de Laron⁽²³⁾ con 25 niños diabéticos, en que demuestra que éstos crecen menos que los no diabéticos. Por otra parte, y en sentido contrario, conviene mencionar los trabajos clínicos de Jefferson⁽⁹⁾, quien estudia la estatura en dia-

béticos menores de 5 años, destacando que en el 30% el período comprendido entre el primer síntoma (cetoacidosis, poliuria, polidipsia, pérdida de peso y otros) y el diagnóstico, no fue mayor de dos semanas; además, estudia el desarrollo estaturoponderal y encuentra que la talla de estos pacientes en el momento del diagnóstico era la esperada, según los percentiles que se manejan para niños menores de 5 años, mientras que los diagnosticados entre los 5-10 años fueron más altos que el promedio. No encontramos explicación a estos resultados tan contradictorios,

TABLA I

	Control	Diabéticas
	N = 10	N = 7
1M + 2S	Media = 45,23 StD = 3,86	Media = 44,58 StD = 2,96
	N = 11	N = 6
1M + 4S	Media = 49,16 StD = 2,50	Media = 48,46 StD = 2,29
	N = 5	N = 4
1M + 6S	Media = 57,58 StD = 1,83	Media = 52,57 StD = 3,49
	N = 6	N = 4
1M + 8S	Media = 61,15 StD = 1,53	Media = 51,19 StD = 0,92

N: Tamaño muestral; StD: Desviación estándar.

TABLA II COMPARACIÓN DE LAS DISTRIBUCIONES DE LAS ÁREAS DENTALES.

1 M + 2 S	1 M + 4 S	1 M + 6 S	1 M + 8 S
W = 57	W = 49	W = 11	W = 10
Z = -0,5367	Z = -0,4522	Z = -2,0821	Z = -2,4518
P = 0,591	P = 0,6511	P = 0,0373	P = 0,0142

creyendo que las diferencias pueden estar en los métodos de estudio clínico que suelen ser más complejos y las muestras menos uniformes que en los trabajos experimentales.

En relación al método utilizado para diabetizar a nuestros animales, es de señalar que hemos utilizado una dosis mayor que la recomendada o han utilizado otros autores^(6, 7). La razón fue que no se logró producir diabetes a las dosis habituales, teniendo que desechar estos animales del estudio, sacrificándolos.

En este trabajo experimental hemos determinado la talla y el peso del animal, así como el tamaño del diente en las ratas diabéticas no tratadas y en los controles. Nuestros resultados referidos al peso y la talla, como era de esperar por trabajos anteriores⁽⁶⁾, reflejan

una menor talla y peso (Fig. 1) de los animales diabéticos con respecto a los controles.

Mediante morfometría, sobre una placa radiográfica, hemos hallado que el crecimiento del incisivo inferior de la rata diabética no tratada en las primeras semanas de afectación, es similar al de los controles. Cuando la enfermedad se ha instalado, observamos diferencias significativas en las ratas del grupo 3 (1 M + 6 S) y muy significativa en el grupo 4 (1 M + 8 S). En nuestra opinión, el retraso del crecimiento dentario es una consecuencia de los diferentes cambios metabólicos originados por la hiperglicemia que dificultan la remodelación ósea y facilitan la desnaturalización proteica de los tejidos, incrementando la colagenasa y la

glicosilación con disminución de la síntesis de colágeno⁽²⁴⁾. El estudio histológico de las alteraciones producidas por la diabetes en el incisivo, nos indica que éstas son poco específicas y no afectan a la totalidad de los animales. Sin embargo, es llamativo que la disminución del tamaño del diente sí afecte a toda la muestra, siendo significativa, y muy significativa estadísticamente en las ratas más viejas. Esto indica que este proceso frena el crecimiento dentario al producirse una disminución de manera proporcional de todas sus estructuras. Teniendo en cuenta el momento en que una rata es adulta (es apta para procrear a los 62-63 días), vemos que la disminución en el crecimiento del incisivo es notoria a partir de 1 M + 6 S; es decir, cuando ha completado su desarrollo, poniendo de manifiesto que es necesaria una prolongada acción de la diabetes para dar lugar a estas alteraciones. En el hombre no se evidencian estos cambios de tamaño en el diente, pues para producirse éstos hace falta, como acabamos de decir, que la diabetes actúe por un tiempo muy prolongado, hecho impensable en nuestros días, salvo muy raras excepciones.

Por supuesto, y en conclusión, los resultados del estudio del crecimiento del incisivo inferior de la rata en la diabetes experimental no son extrapolables a la clínica humana, pero pueden ser considerados indicativos en relación a algunos apartados de la enfermedad periodontal y el retraso en la maduración del hueso alveolar; siendo signos evidentes de un enlentecimiento metabólico que desnaturaliza e incapacita a los tejidos para alcanzar un desarrollo acorde con la edad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bloom, Fawcett D. Tratado de Histología. 11ª edición. *Los dientes*. Interamericana. McGraw-Hill, 1981.
2. Glickman I. The periodontal structures in experimental diabetes. *NY J Dent* 1946;**16**:226-251.
3. Ramamurthy N, Zebrowski E, Baker C, Golub L. Alloxan diabetes and reduced bone density in rat mandible. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1973;**5**:614-620.
4. Shires R, Teitelbaum S, Bergfeld M, Fallon M. The effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on bone and mineral homeostasis in the rat. *J Lab Clin Med* 1981;**97**:231-240.
5. Einhorn T, Gunderg C, Vigorita V, Beyer M, Devlin V. The mineral and mechanical properties of bone in chronic experimental diabetes. *J Orthopaed Res* 1988;**6**:317-323.
6. Medina Henriquez J. *Estudio de los cartílagos de crecimiento tibiales en ratas diabéticas no tratadas*. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna, 1987.
7. Abascal Morte J, Farndon J, Davidson H, Johnston I. Inducción experimental de diabetes en ratas mediante la estreptozotocina. Estudios metabólicos a largo plazo. *N Arch Fac Med* 1984;**47**:477-483.
8. Bernick S, Cohen D, Baker L, Laster L. Dental disease in children with diabetes mellitus. *J Periodontol* 1975;**46**:241-245.
9. Jefferson I, Smith M, Baum J. Insulin dependent diabetes in under 5 years olds. *Arch Dis Child* 1985;**60**:1144-1148.
10. Murchinson M, Riopelle A, Owsley D. Dental development in protein-deprived infant rhesus monkeys. *Human Biology* 1988;**60**(3):383-394.
11. *SAS/SAT User s Guide: 1988*. SAS Institute Inc.
12. Wilson T. Periodontal diseases and diabetes. *Diabetes Educ* 1989;**15**:342-345.
13. Johnson, Roger B. Morphological characteristics of the depository surface of alveolar bone of diabetic mice. *J Periodont Res* 1992;**27**:40-47.
14. Borghelli R, Devoto F, Foglia V, Erausquin J. Periodontal changes and dental caries in experimental prediabetes. *Diabetes* 1967;**16**:803-809.
15. Ramamurthy N. Diabetes increases collagenase activity in extracts of rat gingiva and skin. *J Periodontol Res* 1983;**18**:23-30.
16. Junod A, Lambert A, Stauffacher W, Renold A. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* 1969;**48**:2129-2139.
17. Ramamurthy N, Golub L. Collagen biosynthetic enzyme activity in diabetic rata gingiva. *J Dent Res* 1978;**57**:311.
18. Leblond C, Warshawsky H. Dynamics of enamel formation in the rat incisor tooth. *J Dent Res* 1979;**58**:950-975.
19. Johnson R, Thliveris J. Effect of low-protein diet on alveolar loss in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Periodontol* 1989;**60**:264-270.
20. Leblond C. Synthesis and secretion of collagen by cells of connective tissue, bone and dentin. *Anat Rec* 1989;**224**:123-138.
21. Linde A. Dentin matrix proteins: composition and possible functions in calcifications. *Anat Rec* 1989;**224**:154-156.
22. Schneir M, Imberman M, Ramamurthy N, Golub L. Streptozotocin-induced diabetes and the rat periodontium: decreased relative collagen production. *Coll Relat Res* 1988;**8**:221-232.
23. Laron A, Volovitz B, Karp M. Linear growth and insulin dose as indices of control in children with diabetes mellitus. En: Laron, Basel, Karger (eds). *Pediatric and adolescent Endocrinology*. Medical aspects of balance of diabetes in Juveniles Vol 2. 1977; pág. 60.
24. Ramamurthy N. Diabetes increases collagenase activity in extracts of rat gingiva and skin. *J Periodontol Res* 1983;**18**:23-30.

Evaluación de un nuevo medidor de glucosa en sangre

I. Lluch¹, M.^a L. Gil², P. Martínez², J. Tébar³

¹Área Médica LifeScan. Johnson & Johnson, S.A. Madrid. ²S. Análisis Clínicos. Hospital Universitario «Virgen de la Arrixaca». Murcia.

³S. Endocrinología. Hospital Universitario «Virgen de la Arrixaca». Murcia.

Aceptado: Diciembre 1997

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue evaluar la exactitud y precisión de un nuevo sistema de automonitorización de la glucosa sanguínea (Gluco Touch). Se analizaron un total de 81 muestras de sangre venosa obtenidas de forma aleatoria y aprovechando el momento de una extracción de sangre programada previamente. De cada muestra se realizaron dos determinaciones con el medidor y dos determinaciones con el método de referencia (hexoquinasa), además se midió el hematocrito estando los valores de éste comprendidos entre 31 y 52,1%. Existió muy buena correlación entre el medidor y el método de referencia, siendo $y = 0,88x + 3,73$ y $r = 0,996$. En la valoración de la significación clínica de los resultados el 100% de las muestras analizadas se encontraban dentro de la zona de exactitud clínica (zona A). Para el estudio de la precisión, las muestras fueron separadas en cinco estratos según el nivel de glucemia obtenido: < 60 mg/dL, 60-120 mg/dL, 121-180 mg/dL, 181-240 mg/dL y > 240 mg/dL. Los coeficientes de variación en cada uno de los cinco estratos fueron siempre inferiores al 3%. Concluimos, por tanto, que el sistema Gluco Touch es muy fiable en las determinaciones de glucosa en sangre y, por tanto, de gran utilidad en el manejo de los pacientes con diabetes.

PALABRAS CLAVE: Diabetes mellitus; Autoanálisis de glucosa en sangre; Automonitorización de glucosa en sangre; Medidores de glucosa en sangre; Gluco Touch.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the accuracy and precision of a new blood glucose self-monitoring system (Gluco Touch). A total of 81 venous blood samples obtained randomly during a previously scheduled blood extraction were analyzed. Two analyses of each sample were performed with the meter and two with the reference method (hexokinase). Hematocrit values were also measured and found to be between 31 and 52,1%. A very good correlation was found between the meter and the reference method: $y = 0.88x + 3.73$ and $r = 0.996$. Upon evaluating the clinical significance of results, 100% of the samples analyzed were found to be within the clinically accurate zone (Zone A). To study precision, samples were separated into five strata according to the blood glucose level obtained: < 60 mg/dL, 60-120 mg/dL, 121-180 mg/dL, 181-240 mg/dL and > 240 mg/dL. Coefficients of variation for each of the five strata were always below 3%. Our conclusion is that the Gluco Touch System is very reliable for measuring blood glucose and therefore that it is very useful for the management of diabetic patients.

KEY WORDS: Diabetes mellitus; Self-testing of blood glucose; Self-monitoring of blood glucose; Blood glucose meters; Gluco Touch.

INTRODUCCIÓN

La aparición de sistemas para la automonitorización de glucosa en sangre por los propios pacientes diabéticos, ha hecho posible que éstos puedan de una forma fácil y cómoda, conocer cuáles son sus niveles de glucemia y, de esta forma, permitir el ajuste óptimo del tratamiento.

Desde la década de los 80 hasta ahora se ha avanzado de una forma importante en la obtención de medidores cada vez más exactos, sencillos de

utilizar, cómodos de llevar y, sobre todo, intentando que la manipulación de la muestra sanguínea por los usuarios sea mínima, para de esta forma evitar aquellos factores que puedan influir en la obtención de resultados válidos y fiables^(1, 2).

El autoanálisis de la glucemia se ha convertido en los últimos años en un componente fundamental en el tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus. El estudio DCCT (Diabetes Control and Complications Trial)⁽⁴⁾ ha confirmado definitivamente los bene-

ficios que aporta el alcanzar y mantener un control glucémico lo más cercano posible a la normalidad mediante una terapia intensiva, donde el autoanálisis frecuente es parte integrante del tratamiento.

Existen diversos sistemas para la automonitorización de la glucemia, pero, puesto que los resultados obtenidos en dichos análisis son empleados para optimizar tratamientos, es necesario asegurar la máxima exactitud y precisión de los mismos.

La exactitud de los resultados puede verse afectada por diversos factores, tanto debidos a la manipulación de las muestras por los usuarios, como a los errores analíticos⁽⁵⁻⁷⁾, por lo que, cuantos más factores posibles de error se puedan erradicar más fiables serán las determinaciones. Esto es lo que ocurre con los medidores denominados de segunda generación en los que se eliminan gran parte de los posibles errores cometidos por los usuarios. Según la FDA (Food and Drug Administration), alrededor de las 3/4 partes de los errores que se cometen en el autoanálisis pueden ser atribuidos a los usuarios⁽⁸⁾.

Por todas estas razones, nos planteamos la realización de este estudio con el fin de determinar la exactitud y precisión del nuevo sistema Gluco Touch, comparándolo con un método estándar de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en los Servicios de Endocrinología y Análisis Clínicos del Hospital «Virgen de la Arrixaca» de Murcia. Para la realización del estudio de la exactitud se utilizaron

81 muestras de sangre venosa obtenidas de forma aleatoria, y procedentes de pacientes diabéticos o sujetos no diabéticos que acudieron al hospital para la realización de un control rutinario o bien permanecían ingresados.

Después de informar convenientemente a los sujetos, se procedía a la obtención de las muestras sanguíneas mediante la punción de la vena antecubital del brazo, aprovechando siempre el momento de la extracción programada previamente. Las muestras fueron recogidas en tres tubos que contenían EDTA como anticoagulante. Uno de ellos era utilizado para hacer dos determinaciones de glucosa con el sistema Gluco Touch (LifeScan Inc. Milpitas, California) inmediatamente después de la extracción sanguínea y depositando la sangre en la tira reactiva con una micropipeta y siempre por el mismo investigador. Otro tubo era centrifugado y separado en el mismo lugar de la extracción, de tal forma que todas las muestras fueron debidamente etiquetadas y preparadas para su posterior traslado y procesamiento en el laboratorio en un tiempo de alrededor de 10 minutos. Se realizaron dos determinaciones de glucemia en cada una de las muestras. Finalmente, el tercer tubo era remitido para determinación del hematocrito (Sysmex EN 8000TM, TOA Medical Electronics, Kobe).

Para obtener resultados de glucosa en el rango bajo, una parte de las muestras recogidas fueron expuestas a temperatura ambiente antes de ser centrifugadas, para permitir la glucólisis y obtención de niveles bajos de glucosa.

El método de referencia empleado para las determinaciones de glucemia fue el método de la hexoquinasa

(Hitachi 747/737, Boehringer Mannheim, Mannheim).

Para el estudio de la precisión, las muestras fueron separadas en cinco estratos según el nivel de glucosa obtenido: < 60 mg/dL, 60-120 mg/dL, 121-180 mg/dL, 181-240 mg/dL y > 240 mg/dL. Se realizaron 20 determinaciones consecutivas de la misma muestra de sangre en un tiempo máximo de 25 minutos (una muestra en cada intervalo de glucosa).

El análisis estadístico de la exactitud se hizo mediante el cálculo de la recta de regresión lineal simple y el coeficiente de correlación de Pearson. Para valorar la significación clínica de los resultados se utilizó el Error Grid Analysis⁽⁹⁻¹²⁾, método descrito por Clarke y cols. El análisis de la precisión se hizo mediante el cálculo de la media, desviación estándar y coeficiente de variación (CV), en cada uno de los estratos.

RESULTADOS

1. Estudio de exactitud

Para el estudio de la validez o exactitud del método se utilizaron 81 muestras de sangre, las cuales estaban comprendidas en un rango de glucemia entre 12 y 492 mg/dL.

Para evaluar la relación existente entre los dos métodos utilizamos la regresión lineal simple y el coeficiente de correlación de Pearson. La pendiente encontrada fue de 0,88 (95% de intervalo de confianza = 0,86, 0,89) con una intersección de 3,73 mg/dL, siendo $y = 0,88x + 3,73$, con una correlación $r = 0,996$ (Fig. 1).

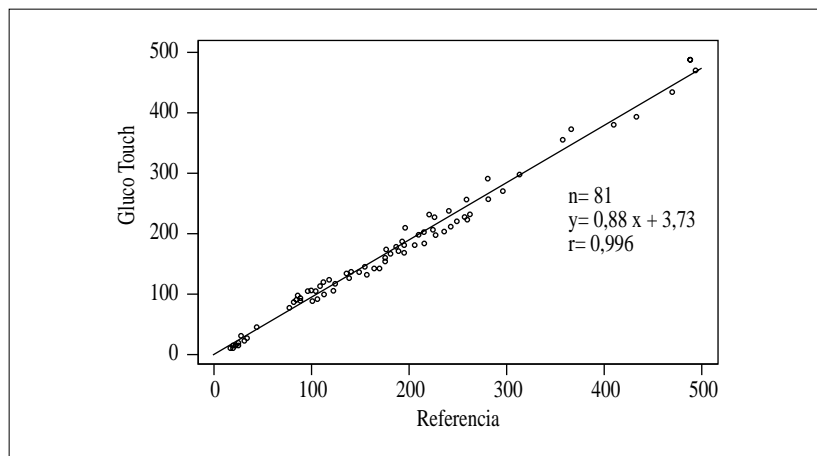


Figura 1. Comparación del Gluco Touch con el método de referencia (Hitachi 747/737).

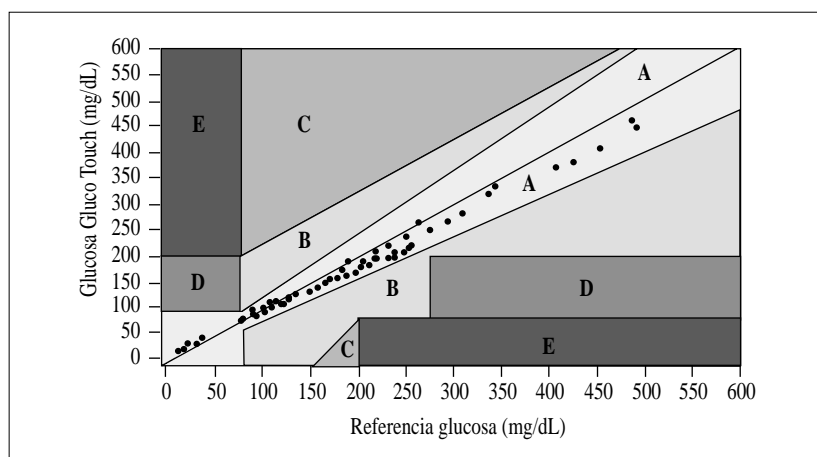


Figura 2. Significación clínica (Error Grid Analysis)¹²⁾; Zona A: Exactitud clínica. Zona B: Desviación del método de referencia en más de un 20%, que conduciría a tratamiento leve o no tratamiento; Zona C: Desviación del método de referencia en más de un 20%, que conduciría a errores por innecesario tratamiento corrector; Zona D: Fallo potencialmente peligroso para detectar y tratar niveles de glucemia sanguínea fuera del rango deseado; Zona E: Resultaría en un tratamiento erróneo.

TABLA I RESULTADOS DEL ESTUDIO DE PRECISIÓN.

	Nº	Media	D.E.	C.V. (%)
< 60 mg/dL	20	52,2	0,9	1,8
60-120 mg/dL	20	83,3	2,2	2,6
121-180 mg/dL	20	137,3	3,1	2,3
181-240 mg/dL	20	193,5	3,2	1,6
> 240 mg/dL	20	247,9	7,1	2,8

Finalmente, al valorar la significación clínica de los resultados encontrados, aplicando para ello el Error Grid

Analysis (Fig. 2), se evidenció que el 100% de las determinaciones realizadas se encontraban en la zona A, sien-

do, por tanto, todos los resultados obtenidos clínicamente exactos.

2. Estudio de precisión

Para medir la fiabilidad o precisión del sistema Gluco Touch se realizaron 20 determinaciones consecutivas de una misma muestra de sangre en cada intervalo de glucosa, calculando el coeficiente de variación en cada estrato y encontrándose éstos entre 1,6% y 2,8% (Tabla I).

Las muestras analizadas presentaban un hematocrito comprendido entre 31,0 y 52,1%, estando todos ellos dentro de los rangos de normalidad, y por tanto, no ejerciendo ninguna influencia en los resultados obtenidos.

DISCUSIÓN

Con la introducción del autoanálisis glucémico como parte integrante del tratamiento de la diabetes se ha visto que se consigue mejorar las cifras de hemoglobina glicosilada (HbA1c) y se reducen el número de ingresos hospitalarios por disminución de las complicaciones agudas^(13, 14). Adicionalmente, los resultados de estudios clínicos recientes han mostrado de una forma convincente que el buen control glucémico retrasa o previene las complicaciones microvasculares y neuropáticas^(4, 15-19).

Sin embargo, también es sabido por todos que para conseguir un óptimo control glucémico es necesario un autoanálisis de los niveles glucémicos frecuente y que el paciente realice un autoajuste del tratamiento insulínico, die-

tético y del ejercicio. Se ha podido demostrar que gran parte del éxito de los programas con terapia intensiva en la diabetes tipo I depende del número de las determinaciones de glucosa que se realizan, debiendo ser éstas de al menos cuatro diarias. Un descenso en el número de estas determinaciones conlleva un empeoramiento en el control glucémico⁽³⁾.

Dada la importancia del autoanálisis como elemento imprescindible para alcanzar un buen control metabólico, es necesario que los sistemas de autoanálisis sean exactos y precisos en todo el rango analítico, sobre todo en aquellos niveles de glucemia donde una información errónea pueda llevar a la toma de decisiones no apropiadas en el tratamiento. Esto tiene especial relevancia en las hipoglucemias^(20, 21).

En este sentido, nuestro estudio en general, ha mostrado resultados mejores en precisión a los descritos en la literatura⁽²²⁻²⁶⁾. En el rango de glucemias inferiores a 60 mg/dL, el CV fue de 1,8%, y en los niveles superiores a 240 mg/dL, donde es conocida la disminución de la precisión de algunos medidores^(22, 26, 27) el CV sigue siendo inferior a un 3%.

Desde el punto de vista de la significación clínica de los resultados, aplicando para ello el «Error Grid Analysis», se aprecia (Fig. 2) que todas las determinaciones se encontraban en la zona A (zona de exactitud clínica). Este método, por otra parte, es cada vez más utilizado por los investigadores para evaluar clínicamente los resultados obtenidos con el medidor frente a los obtenidos en el laboratorio, dándonos una idea más objetiva de si las diferencias encontradas entre ambos méto-

dos influyen y en qué medida influyen en la toma de decisiones^(22, 25, 28-30).

Finalmente, cabe resaltar la importancia que tiene el correcto manejo de los distintos medidores que puedan utilizarse en la práctica clínica diaria, tanto por el profesional sanitario como por los pacientes diabéticos⁽³¹⁻³⁴⁾. En nuestro estudio las determinaciones fueron realizadas por personal de laboratorio debidamente entrenado en el manejo del sistema. En un estudio previo realizado con pacientes diabéticos los resultados fueron similares a los nuestros⁽³⁵⁾. El entrenamiento del paciente en el manejo de los distintos medidores que pueda o vaya a utilizar resulta fundamental, si queremos que las determinaciones sean totalmente fiables.

Como conclusión podemos afirmar que el sistema Gluco Touch, en comparación con el método de referencia, muestra una buena exactitud y precisión (CV inferior al 3%), que junto con la exactitud clínica mostrada, hacen que sea muy fiable en la medición de glucemia y, por tanto, puede ser de gran utilidad en el control metabólico del paciente diabético.

BIBLIOGRAFÍA

1. The National Steering Committee for Quality Assurance in Capillary Blood Glucose Monitoring: Proposed strategies for reducing user error in capillary blood glucose monitoring. *Diabetes Care* 1993;**16**:493-498.
2. Nettles A. User error in blood glucose monitoring. The National Steering Committee for Quality Assurance Report. *Diabetes Care* 1993;**16**:946-948.
3. American Diabetes Association. Consensus statement on self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1996;**19**(Suppl 1):S62-S66.
4. 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.
5. Gadsen RH. Sources of variation in blood glucose testing. En: *Challenges in Diabetes Management/Milestone in Monitoring. Health Education Technologies*. New York, 1988; págs. 63-66.
6. Wiener K. The effect of haematocrit on reagent strip tests for glucose. *Diabetic Med* 1991;**8**:172-175.
7. Velázquez FR, Bartholomew D. Effect of small sample volume on five glucose monitoring systems. *Diabetes Care* 1996;**19**:903-904.
8. Center for Devices and Radiological Health (CDRH). *Use of meters in self-monitoring of blood glucose: Task III report*. Vol 3. Rockville, MD: FDA, CDRH, March 1990.
9. Cox D, Clarke W, Gonder-Frederic L, Phol S, Hoover C, Snyder A, y cols. Accuracy of perceiving blood glucose in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1985;**8**:529-536.
10. Pohl SL, Gonder-Frederic LA, Cox DJ, Evans WS. Self measurement of blood glucose: clinical significance of patient generated measurements. *Diabetes Care* 1985;**8**:617-619.
11. Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederic LA, Carter W, Phol SL. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1987;**10**:622-628.
12. Dedrick RF, Davis WK. What do statistics really tell us about the quality of the data from self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1989;**6**:267-273.
13. Clement S. Diabetes self-management education. *Diabetes Care* 1995;**18**:1204-1214.
14. Drozda DJ, Dawson VA, Long DJ, Freson LS, Sperling MA. Assessment of the effect of a

- comprehensive diabetes management program on hospital admission rates of children with diabetes mellitus. *Diabetes Educ* 1990;**16**:389-393.
15. Nathan DM. The rationales for glucose control in diabetes mellitus. *Clin End Metab North Am* 1992;**21**:221.
16. Santiago JV. Intensive management of insulin dependent diabetes: risks, benefits and unanswered questions. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;**75**:977.
17. Reichard P, Nilsson B-Y, Rosenquist U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;**329**:304-309.
18. Amiel SA. Diabetic control and complications. *BMJ* 1993;**307**:881-882.
19. Wang PH, Lau J, Chalmers TC. Meta-analysis of effects of intensive blood-glucose control on late complications of type I diabetes. *Lancet* 1993;**34**:1306-1309.
20. Amiel S. Reversal of unawareness of hypoglycaemia. *N Engl J Med* 1993;**329**:876-877.
21. Diabetes Control and Complications Trial Group. Epidemiology of severe hypoglycaemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Am J Med* 1991;**90**:450-459.
22. Devreese K, Leroux-Roels G. Laboratory assessment of five glucose meters designed for self-monitoring of blood glucose concentration. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993;**31**:829-837.
23. Medrano A, García JJ. Estudio sobre la exactitud de tres reflectómetros portátiles para la determinación de la glucemia: Reflolux II, Glucometer II y Glucosot II. *Atención Primaria* 1993;**12**:273-275.
24. Redondo C, Solano T, Pérez R, Trujillo D, Medrano A. Evaluación del reflectómetro Glucocard II. *Salud Rural* 1996;**12**:107-110.
25. Tieszen KL, Burton SF, Doman TL, Matthews, McMurray JR. Evaluation of a second-generation electrochemical blood glucose monitoring system. *Diabetic Med* 1995;**12**:173-176.
26. Cordido F, Grant C, Rovira A, Herrera JL. Valoración de cinco reflectómetros para la medida de glucosa en sangre. *Endocrinología* 1987;**34**:18-24.
27. Johnson PL, Luther RJ, Hipp S, Stegeman M, Andrew MT, Green J. A comparative Evaluation of bedside capillary blood glucose monitoring devices designed for hospital use. *Diabetes Educ* 1995;**21**:420-425.
28. Trajanoski Z, Brunner GA, Gfrerer RJ, Wach P, Pieber TR. Accuracy of home blood glucose meters during hypoglycemia. *Diabetes Care* 1996;**19**:1412-1415.
29. Clarke WL, Becker DJ, Cox J, Santiago JV, White NH, Bestchart J y cols. Evaluation of a new system for self blood glucose monitoring. *Diabetes Res Clin Pract* 1988;**4**:209-214.
30. Rachwal W, Carlson R, Grunberger G. Use of glucose reflectance meters by house officers on a medical teaching ward. *Diabetes Spectrum* 1993;**6**:278-281.
31. Drucker RF, Williams DR, Price CP. Quality assessment of blood glucose monitors in use outside the hospital laboratory. *J Clin Pathol* 1983;**36**:948-953.
32. Lawrence PA, Dowe MC, Perry EK, Strong S, Samsa GP. Accuracy of nurses in performing capillary blood glucose monitoring. *Diabetes Care* 1989;**12**:298-301.
33. Tate PF, Clement CA, Walters JE. Accuracy of home blood glucose monitors. *Diabetes Care* 1992;**15**:536-538.
34. Jones HE, Cleave B, Zinman B, Szalai JP, Nichol HL, Hoffman BR. Efficacy of feedback from quarterly laboratory comparison in maintaining quality of a hospital capillary blood glucose monitoring program. *Diabetes Care* 1996;**19**:168-170.
35. Namba E, Poff D. Exactitud y aceptación por el usuario del Sistema Gluco Touch. Estudio de seis semanas realizado por adultos con diabetes mellitus. *Educación Diabetológica Profesional* 1996;**6**:27-30. Translation of a LifeScan Publication.

Estudio del número y pureza de islotes pancreáticos de rata, en fresco y en cultivo, en más de 500 aislamientos

R. del Río Valtierra, M.L. Soto Montenegro, S. Alvarez Gómez, B. Martínez Valenzuela, A. Arranz Martín, M.C. Martín-Scapa, A. Jara Albarrán

Unidad de Medicina y Cirugía Experimental. Servicio de Endocrinología. Hospital General Universitario «Gregorio Marañón». Madrid.

Acceptedo: Enero 1998

RESUMEN: Presentamos nuestra experiencia en el número y purificación de islotes de rata Wistar, durante los últimos años, mediante el método de inyección intraductal de colagenasa, seguido de purificación en gradientes de albúmina bovina sérica (BSA).

Se han procesado 539 páncreas de rata Wistar. El número equivalente de islotes (ENI) obtenido por páncreas fue de (media \pm DE) $1.203 \pm 520,27$, con una pureza de $67 \pm 15,38\%$. La muestra fue clasificada en tres grupos de estudio en función de la permanencia en cultivo de los islotes extraídos: cultivo de 24 horas (N = 134), cultivo de 48-72 horas (N = 95) y cultivo de 7, 8 y 9 días (N = 107). Encontramos una pérdida del ENI junto con una ganancia en pureza, ambas estadísticamente significativas ($p < 0,005$), en relación con el tiempo de permanencia en cultivo de los islotes. A las 24 horas de cultivo, el ENI disminuyó en un 25%, mientras que la pureza ascendió a un 7%. Tras 48-72 horas, existía un 20% menos de ENI con una pureza un 10% mayor. El descenso del ENI de un 43%, junto a una pureza de un 20% mayor se encontró en el tercer grupo, a los 7, 8 y 9 días. Comparando los islotes procedentes de ratas hembras y de ratas machos, no se encontró significación estadística en cuanto al ENI, siendo ligeramente significativo ($p < 0,05$) en relación con la pureza.

En conclusión, combinando el aislamiento y purificación iniciales con uno o más días de cultivo según los casos, pueden obtenerse muestras con el número (ENI) deseado de islotes y pureza igual o superior al 90%.

PALABRAS CLAVE: Islotes pancreáticos de rata; Aislamiento; Cultivo; Pureza.

ABSTRACT: We present our experience about the number and purification of Wistar rat islets, during the last years, using the method of intraductal injection of collagenase and purification with density gradient of bovine serum albumin (BSA). We have processed 539 rats pancreas. The equivalent number of islets (ENI) obtained from each pancreas was (mean \pm DS) 1203 ± 520.27 , with a purity of $67 \pm 15,38\%$. The samples were classified in three study groups in relation with the duration of the islet culture, 24 hours (N = 134), 48-72 hours (N = 95) and 7, 8 or 9 days (N = 107). With most days of culture we have observed less ENI with most purity, both with statistical significance ($p < 0,005$). After 24 hours of culture, ENI was 25% lower, while purity was 7% higher. After 48-72 hours of culture, ENI decreased 20% and purity increased 10%. In the third group (7, 8 or 9 days of culture) ENI was 43% lower and purity was 20% higher, compared with fresh islets.

In conclusion, it's possible to combine the initial isolation and purification with one or more days of culture according to each case, to obtain samples with the wanted number (ENI) of islets and 90% or more purity.

KEY WORDS: Rat pancreatic islets; Isolation; Culture; Purity.

INTRODUCCIÓN

Desde la iniciación de los procedimientos de alotrasplante de islotes en ratas diabéticas han transcurrido más de dos décadas⁽¹⁾, habiéndose perfeccionado notablemente las técnicas de aislamiento⁽²⁾, purificación⁽³⁾ y cultivo⁽⁴⁻⁶⁾ de los islotes, de forma que incluso se han desarrollado técnicas automatizadas para su aplicación en mamíferos superiores y en el hombre⁽⁷⁻⁹⁾.

La introducción de la colagenasa y su inyección intraductal⁽¹⁰⁾, supuso un

notable avance en la técnica del aislamiento. En cuanto a la purificación se han aplicado diversas técnicas con gradientes de densidad variable como el ficoll⁽¹¹⁾, BSA⁽¹²⁾, dextrano⁽¹⁰⁾, etc.

A lo largo de los últimos años, nuestro grupo ha realizado una serie de aislamientos de islotes de rata con la finalidad de su trasplante^(13, 14), cultivo⁽⁵⁾, estudio de hipoglucemia postrasplante^(15, 16) y otros (cultivo de islotes encapsulados en GFA)⁽¹⁷⁾, etc. Por ello, nos ha parecido conveniente revisar nuestros datos y recopilarlos, como punto

de referencia propia y de comparación con otros grupos. Nuestros objetivos han sido la recopilación de nuestros resultados de aislamiento y purificación de islotes recién aislados (islotes frescos) procedentes de más de quinientos páncreas de rata, así como la comparación de la variación de su número equivalente de islotes (ENI) y pureza por cada páncreas tras el cultivo de 24 horas, 48-72 horas y tras 7, 8 y 9 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

La muestra elegida fue un total de 539 páncreas de rata Wistar, 413 hembras de 250 a 300 g de peso y 126 machos de 400 a 450 g de peso, criadas en el animalario del Pabellón de Investigación con pienso Letica sin restricción, en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas.

La anestesia utilizada fue pentotal (5 mg por cada 100 mg de peso) en inyección intraperitoneal, o una mezcla de ketamina (50 mg), diazepam (20 mg) y atropina (1 mg) por vía intramuscular.

Tras laparotomía media, se exteriorizaba el hígado para localizar el conducto biliar común y pinzar posteriormente el ductus en su desembocadura duodenal, canalizando la vía biliar con una aguja 25G Butterfly. Se inyectaba colagenasa (Collagenase tipo V Sigma) fría a una concentración de 3 mg/ml para insuflar todo el páncreas. Era extraído, procurando no dañarlo, y colocado en un tubo universal depositado en una cubeta con hielo. Posteriormente se procedía a la incubación del páncreas a 37°C con agitación de 50 revoluciones por minuto durante 18 minutos. Tras la incubación, se agitaba fuertemente

durante un minuto y se filtraba el material digerido a través de una malla de 500 µm de apertura, parando la reacción digestiva de la colagenasa con solución fría de MEM (Minimum Essential Medium Eagle) más BSA (Bovine Serum Albumin). Se sometía a varios lavados con la misma solución, dejando únicamente el pellet de islotes y tejido exocrino residual, procediéndose entonces a la purificación. Utilizamos gradientes de albúmina bovina sérica (BSA)(12) de densidades 1.056, 1.077 y 1.085, medidos adecuadamente con un densitómetro (Density meter DMA 35), centrifugación en HB-4 a 2.200 revoluciones por minuto a 4°C y durante 20 minutos. Los islotes pancreáticos de rata se sitúan en la interfase entre 1.056 y el gradiente intermedio (1.077 para los islotes procedentes de ratas hembras, y 1.075 para los de ratas machos); y una vez recogidos, se lavaban dos o tres veces con MEM más BSA, obteniéndose islotes muy purificados, preparados para su cultivo en placas de Petri o para su trasplante.

Para la estimación del contaje y purificación se obtuvieron muestras duplicadas de 25 µl de un volumen de 1 ml, tiñéndolas con ditizona (DTZ)⁽¹⁸⁾, y observándolas a través de un microscopio óptico de veinte aumentos y una gradilla milimetrada, de forma que cada milímetro equivale a 50 µm. Aplicando los acuerdos internacionales⁽¹⁹⁾ cada islote equivalente mide 150 µm, expresando entonces el número de islotes equivalentes (ENI), multiplicando la media de cada dos muestras por cuarenta. Habitualmente, el contaje lo realizaban dos personas del equipo, obteniéndose la media de los resultados de ambas lecturas. La pureza se expresaba en porcentaje de la masa total de

islotes dentro del conjunto de la muestra visualizada, formada ésta por islotes y tejido exocrino u otras impurezas.

Para el cultivo de los islotes obtenidos, se utilizó el medio RPMI, añadiendo glutamina, penicilina, estreptomycinina y suero bovino fetal (BFS); depositando los islotes y el medio de cultivo tisular en placas Petri de 10 cm de diámetro, que se colocaban en una estufa a 37°C con 5% de presión de CO₂; cambiándose el medio cada dos o tres días.

Las muestras de los diferentes días de cultivo se obtenían como dato previo a su utilización para alotrasplante o para su encapsulación en gelfoam-agarosa con diversos fines.

RESULTADOS

Los resultados en términos de ENI y pureza (en porcentaje) se recogieron, tanto en el momento de su aislamiento (islotes en fresco), como posteriormente tras cultivo (24 horas, 48-72 horas y 7, 8 y 9 días). Se expresan a continuación:

A) Islotes frescos. A partir de 539 páncreas procesados de rata Wistar, se han obtenido 1.203 ENI de media, con una desviación estándar de 520,27 (1.203 ± 520,27) y una pureza de 67 ± 15,38%.

Dentro de la variabilidad expresada por la media y la desviación estándar, nuestros mejores resultados han llegado a ser en algunas ocasiones, de 2.500 e incluso 3.790 ENI, con 85-95% de pureza.

B) Islotes en cultivo 24 horas. En un total de 134 páncreas, cuyos islotes fueron cultivados 24 horas, en fresco se obtuvo un ENI de 1.232 ± 656,49 y una pureza de 63 ± 13% que, tras el

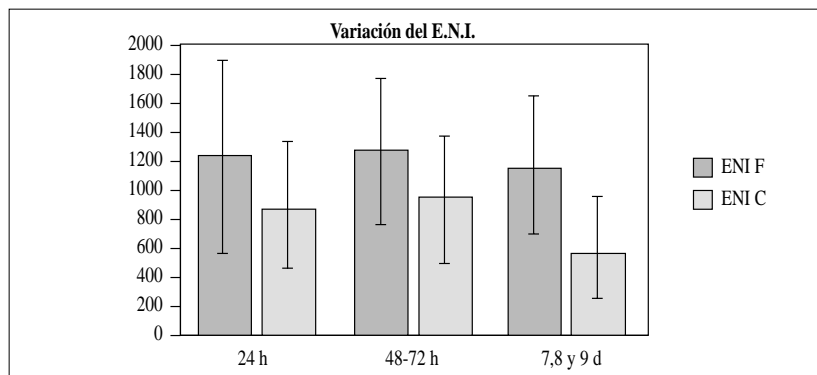


Figura 1. Variaciones del número de islotes (ENI) a las 24 horas, 48-72 horas y 7, 8, 9 días en comparación con el número inicial en fresco.

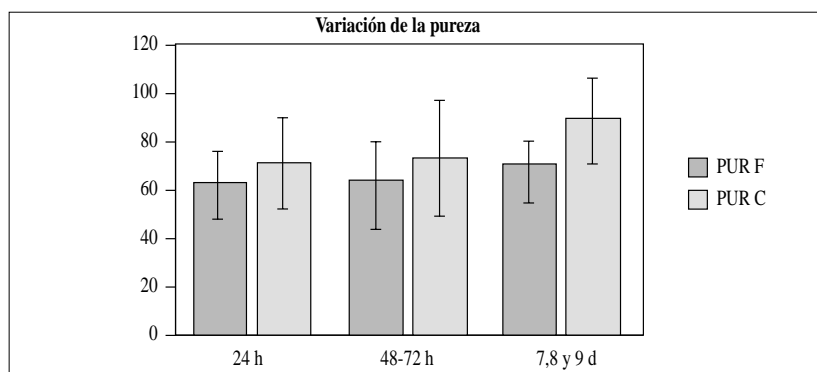


Figura 2. Variaciones de la pureza (%) de los islotes a las 24 horas, 48-72 horas y 7, 8, 9 días en comparación con la pureza inicial en fresco.

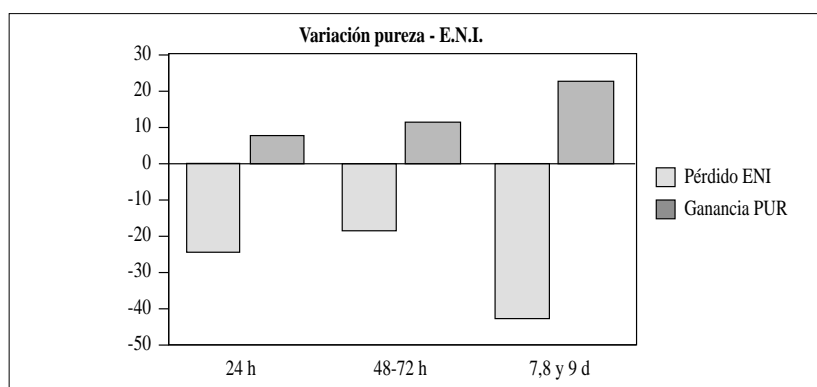


Figura 3. Expresión en porcentajes, sobre los datos iniciales, de la ganancia en pureza y de la pérdida del número de islotes (ENI) tras 24 horas, 48-72 horas y 7, 8, 9 días de cultivo.

cultivo, pasaron a ser $890 \pm 445,69$ ENI con una pureza de $71 \pm 18\%$, lo que mostraba una pérdida del 25% en ENI y una ganancia en pureza del 7%.

C) Islotes en cultivo 48-72 horas.

Se estudiaron muestras procedentes de 95 páncreas con los resultados en fresco de $1.244 \pm 521,52$ ENI y $63 \pm 16\%$

de pureza, que tras los dos-tres días de cultivo fueron $945 \pm 438,37$ ENI y $72 \pm 22\%$ de pureza, lo que representa una pérdida del 20% en ENI y una ganancia del 10% en pureza.

D) Islotes en cultivo 7, 8 y 9 días.

La muestra analizada procedía de 107 páncreas, con los resultados en fresco

de $1.162 \pm 462,87$ ENI y $68 \pm 13\%$ de pureza, que tras los días mencionados (agrupados para facilitar el estudio) fueron de $594 \pm 338,42$ ENI y $87 \pm 19\%$ de pureza, lo que representa una pérdida del 43% en ENI y una ganancia del 20% en pureza.

E) Islotes de rata hembra y rata macho. Del total de páncreas extraídos, 413 procedían de ratas hembras, de las que se obtuvo los resultados en fresco de $1.195,81 \pm 466,97$ ENI, con una pureza de $67,87 \pm 14,27\%$, mientras que los obtenidos de 126 ratas macho supuso un ENI de $1.224,71 \pm 656,41$, con una pureza de $64,52 \pm 17,36\%$. Comparando ambos resultados en cuanto al ENI no se ha encontrado significación estadística, y en relación con la pureza es ligeramente significativa ($p < 0,005$).

F) Datos en conjunto. En conjunto los resultados absolutos de variación en ENI se pueden observar en la figura 1, y los de pureza en la figura 2; comparándolos con sus respectivos islotes en frescos y observando una significación estadística en cada uno de los grupos de cultivo (Tabla I). En la figura 3 se expresan las variaciones de los islotes cultivados de uno a nueve días, expresándolos en porcentajes de pérdida o ganancia.

Para el estudio estadístico se utilizó la «t» de Student, comparando las dos variables cuantitativas (ENI y pureza) en cada grupo de estudio (cultivo 24 horas, cultivo 48-72 horas y cultivo 7, 8 y 9 días).

DISCUSIÓN

El cultivo de islotes pancreáticos es uno de los diversos métodos de pre-

TABLA I DATOS DEL NÚMERO DE ISLOTES (ENI) (MEDIA \pm DE) Y DE LA PUREZA (EN PORCENTAJES), (MEDIA \pm DE) CON EXPRESIÓN DE LA SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA («T» DE STUDENT) EN LOS TRES GRUPOS CONSIDERADOS (24 HORAS, 48-72 HORAS Y 7, 8, 9 DÍAS DE CULTIVO); EN COMPARACIÓN CON SUS RESPECTIVOS DATOS EN FRESCO

Cultivo	N	ENI		Pureza (%)	
		Media \pm DE	P	Media \pm DE	P
Frescos 24 h	134	1.232 \pm 656,49	< 0,001	63 \pm 13	< 0,001
Cultivo 24 h		890 \pm 445,69		71 \pm 18	
Frescos 48-72 h	95	1.244 \pm 521,52	< 0,001	63 \pm 16	< 0,01
Cultivo 48-72 h		945 \pm 438,37		72 \pm 22	
Frescos 7, 8, 9 d	107	1.162 \pm 462,9	< 0,001	68 \pm 13	< 0,001
Cultivo 7, 8, 9 d		594 \pm 338,4		87 \pm 19	

servación e inmunomodulación^(20, 21) que existen para facilitar el alotrasplante y otros estudios sobre islotes. Al obtener un grado de pureza mayor, se eliminan las células dendríticas HLA-II existentes, disminuyendo de esta forma su antigenicidad⁽²²⁾.

En la búsqueda bibliográfica se encuentra un escaso número de publicaciones que describan el ENI y la pureza de los islotes obtenidos en fresco⁽²³⁾ y tras cultivo⁽²⁴⁾. Algunos autores lo describen parcialmente, haciendo referencia al ENI en el momento de la extracción sin mencionar el grado de pureza⁽²⁵⁾.

En nuestra experiencia, el número de islotes frescos obtenidos depende de varios factores⁽¹⁴⁾, tales como la buena insuflación del páncreas, su extracción completa, su conservación en frío, el tipo de colagenasa utilizada, el tiempo de incubación, y el modo y tiempo de agitación, etc.

En cuanto a las diferencias entre hembras y machos, con los datos obtenidos, el número de islotes no presenta significación estadística entre ambos sexos, a pesar del peso tan diferente.

En el proceso de la purificación, los gradientes de densidad más utilizados son los de tipo continuo, el Ficoll y la

BSA, a diferencia de los gradientes discontinuos^(11, 26). En nuestro estudio se utilizó la BSA, teniendo en cuenta los posibles factores que podrían alterar la pureza como la osmolaridad del medio del gradiente de densidad, la agregación celular, la variable densidad del tejido exocrino, ...) ⁽³⁾. La densidad pico con gradiente BSA para islotes de ratas es de 1.063 g/ml, motivo por el cual éstos se localizan en la interfaz entre la densidad 1.056 y la densidad intermedia (1.077 para los islotes procedentes de ratas hembras y 1.075 para las ratas machos).

Algunos autores han preferido la utilización de soluciones hiperosmolares como el Ficoll, porque obtenían mejores resultados que con los isosmolares como la BSA^(27, 28). El medio Ficoll forma soluciones claras pero tiene la desventaja de provocar agregación celular y aumentar la actividad osmótica a altas concentraciones. En comparación, la BSA, derivada de una fuente animal con susceptibilidad a contaminarse, previene la tendencia natural de las células a formar agregados, debido a su alta concentración de proteínas, y tiene la propiedad de inhibir la liberación de enzimas exo-

crinas que ayudan a preservar la viabilidad de los islotes.

Nuestra experiencia con los gradientes de BSA es, en general, bastante buena, siempre que se tenga en cuenta algunas detalles: 1. La preparación de las soluciones debe ser ajustada con meticulosidad, utilizando para ello un densitómetro, y contrastando su posible variabilidad con el paso de los días. 2. La procedencia de los islotes, donantes hembras o donantes machos, para ajustar el gradiente intermedio a 1.075 o a 1.077. 3. La colocación de los gradientes en los tubos correspondientes debe hacerse con sumo cuidado.

La práctica de los cultivos de islotes puede tener diversas utilidades, tales como mejorar la pureza de los mismos y a la vez disminuir su antigenicidad con vistas a la tolerancia del trasplante. En nuestra experiencia ha representado un papel de mejora de la tolerancia, aunque parcial, y aun perdiendo un número considerable de islotes. En conjunto, se puede obtener una pureza del 90% a los 7, 8 y 9 días de cultivo, considerando los resultados globales, aunque muchas veces una pureza superior al 80% ya pudo ser obtenida incluso a las 24 horas de cultivo; lo que se puede traducir a efectos prácticos, en casos concretos, en cultivos de más o menos días según sea menor o mayor la pureza de los islotes en fresco, para así contribuir al éxito del trasplante o a su utilización para encapsulación, congelación o estudios "in vitro".

En conclusión, nuestra experiencia en más de 500 aislamientos de páncreas de rata Wistar, muestra un promedio aceptable de islotes en fresco (1.203 \pm 520,27 ENI), que disminuye hasta un 43% conforme aumenta el número de días de cultivo. Por el contrario, la pureza

za inicial ($67 \pm 15,38\%$) mejora hasta el 90% o más, con uno o más días de cultivo.

Conjugando ambos factores, es posible según los objetivos, armonizar el número (ENI) y la pureza (%) de los islotes, juntando varias muestras tras uno o varios días de cultivo, para conseguir el número adecuado y la pureza óptima deseables.

BIBLIOGRAFÍA

- Federlin K, Bretzel RG, Hering BJ. Islet transplantation: Its development from experiment to clinic use. An overview. En: Jara A (dir). *Islet transplantation*. Madrid: Ed. Panamericana 1992;1:25-45.
- Gray WR, Leow CK. Non-automated methods for islet isolation. En: Ricordi C (ed). *Pancreatic islet cell transplantation*. Austin (USA): R.G. Landes Company 1992;9:87-89.
- London NJM, James RFL, Bell PRF. Islet purification. En: Ricordi C (ed). *Pancreatic islet cell transplantation*. Austin (USA): R.G. Landes Company 1992;11:113-122.
- Jindal R, Gray D. Preservation and storage of pancreatic islets. *Transplantation* 1994;**57**:317-321.
- Alvarez S, Soto ML, Martínez B, Arranz A, Martín-Scapa MC, Jara A. Reversión de la diabetes mediante el alotrasplante de islotes previo cultivo en RPMI 7-8 días versus 1-2 días. *Endocrinología* 1997;**44**:119-121.
- Martínez B, Alcázar O, Giné E, Soto ML, Arranz A, Alvarez S, Martín-Scapa MC, Tamarit J, Jara A. Valoración de la secreción estática de insulina por los islotes pancreáticos de rata en relación con el tamaño insular. *Av Diabetol* 1996;**12**:29-32.
- Marchetti P, Finke EH, Gerasidimi-Vazeou A, Falqui L, Scharp DW, Lacy PE. Automated large-scale isolation, in vitro function and xenotransplantation of porcine islets of Langerhans. *Transplantation* 1991;**52**:209-213.
- Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Sharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;**37**:413-420.
- Behboo R, Carroll PB, Memarzadeh S, Zeevi A, Conrad B, Rasrellini C, Ricordi C. Improved long-term culture of functional human islets in serum-free medium. *Transplant Proc* 1994;**26**:3301.
- Van der Vliet JA, Meloche RM, Field MJ, Chen D, Kaufmen DB, Sutherland DE. Pancreatic islet isolation in rats with ductal collagenasa distension, stationary digestion, and dextran separation. *Transplantation* 1988;**45**:493-495.
- James RFL. Density gradient separation of mammalian islets of Langerhans. En: Jara A (dir). *Islet Transplantation*. Madrid: Ed. Panamericana 1992;4:79-90.
- Lake SP, Anderson J, Chamberlain J, Gardner SJ, Bell PRF, James RFL. Bovine serum albumin density isolation of rat pancreatic islets. *Transplantation* 1987;**43**:805-808.
- Alvarez S, Jara A, Arranz A, Alvarez S, Soto ML, Martínez B, Martín-Scapa MC, Lazareno N. Valoración de la eficacia del alotrasplante de islotes pancreáticos de rata en el hígado, midiendo la insulinemia en vena cava inferior y porta. *Av Diabetol* 1996;**12**:15-18.
- Arranz A, Jara A, Alvarez S, Soto ML, Martínez B, Martín-Scapa MC. Patrones de respuesta glucémica en el alotrasplante de islotes pancreáticos en rata. *Endocrinología* 1996;**43**:57-61.
- Jara A, Arranz A, Alvarez S, Soto ML, Martínez B, Martín-Scapa MC. Severity of hypoglycemia in rats when insulin is applied after islet allotransplantation in the liver. *Transplant Proc* 1995;**27**:3217-3219.
- Jara A, Soto ML, Arranz A, Alvarez S, Martínez B, Martín-Scapa MC. Hyper-response to exogenous insulin in diabetic rats after islet allotransplantation, without reversion of diabetes. *Transplant Proc* 1997;**29**:2503-2505.
- Soto ML, Martínez B, Alvarez S, Arranz A, Martín-Scapa MC, Jara A. Liberación de insulina por islotes de rata contenidos en un paquete de Gelfoam-agarosa. *Av Diabetol* 1996;**12**:62-63.
- Latif ZA, Noel J, Alejandro R. A simple method of staining fresh and cultured islet. *Transplantation* 1988;**45**:827-830.
- Ricordi C, Hering BJ, London NJM y cols. Islet isolation assessment. En: Ricordi C (ed). *Pancreatic islet cell transplantation*. Austin (USA): R.G. Landes Company 1992;13:132-142.
- Bretzel RG, Flesch B, Brendel M, Hering B, Federlin K. Cryopreservation of islets of Langerhans. En: Jara A (dir). *Islet Transplantation*. Madrid: Ed. Panamericana 1992;5:97-117.
- Korbutt GS, Pipeleers DG. Cold storage of rat pancreas before purification of islet β -cells. *Diabetes* 1992;**41**:298-307.
- Fernández E, Rodríguez J, Zabay JM. Inmunología del trasplante de islotes: Bases moleculares y celulares. En: Jara A (dir). *Islet Transplant*. Madrid: Ed. Panamericana 1992;2:47-63.
- Papalois A, Papalois B, Tzardis, Bonatsos P, Nikolau T, Pataryas T, Golematis B. Allograft transplantation of pancreatic islets in rats using multiple donors. *Transplant Proc* 1994;**26**:3474-3476.
- Sever CE, Demetris AJ, Zeng J, Carroll P, Tzakis A, Fung JJ, Starzl TE, Ricordi C. Composition of human islet. En: London NJM, James RFL, Bell PRF. Islet purification. En: Ricordi C (ed). *Pancreatic islet cell transplantation*. Austin (USA): R.G. Landes Company 1992;11:113-122.
- Tobin BW, Lewis JT, Tobin BL, Finegood DT. Insulin action in previously diabetic rats receiving graded numbers of islets of Langerhans. *Transplantation* 1995;**59**:1464-1470.
- Lake SP, Chamberlain J, Walczak K, Bell PRF, James RFL. A test gradient system for optimizing density gradient isolation of pancreatic islets. *Transplantation* 1989;**48**:354-357.
- London NJM y cols. An investigation into factors affecting the purity of human islet isolates. En: Jara A (dir). *Islet Transplantation*. Madrid: Ed. Panamericana 1992; 7: 133-138.
- Williams N, Kraft N, Sjørtman K. The effect of osmolarity of gradient media on the density distribution of cells. *Immunology* 1972;**22**:885-899.

Effects of furosemide on glucose homeostasis and serum biochemistry

R. López¹, C. Taboada¹, A. San Miguel²

¹Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, University of Santiago de Compostela, Spain. ²Laboratory of Biochemistry, Hospital del SERGAS, Monforte de Lemos, Lugo, Spain.

Correspondencia: Dr. Angel San Miguel Hernández, Laboratorio Central, Hospital del SERGAS, 27400 Monforte de Lemos, Lugo.

Aceptado: Febrero 1998

RESUMEN: Los diuréticos a menudo incrementan los niveles séricos de lípidos y pueden provocar un incremento en los niveles de ácido úrico e intolerancia a la glucosa. La furosemida se utiliza de forma habitual en el tratamiento de la hipertensión. En este estudio se evaluaron los efectos metabólicos en ratas de la administración de furosemida (15 mg/kg/día) después de un período de tratamiento de dos semanas. Al final del período se determinaron los niveles plasmáticos de glucosa, lípidos, ácido úrico, bilirrubina, calcio, albúmina, proteínas totales, creatinina y varias enzimas, así como el efecto del tratamiento sobre la absorción intestinal de glucosa y de calcio. El tratamiento no provocó alteraciones significativas sobre los niveles plasmáticos de glucosa, ácido úrico, colesterol o triglicéridos. La fosfatasa alcalina (FAL) mostró un aumento importante en su actividad, mientras que la lactato-dehidrogenasa (LDH) sufrió un descenso importante. La absorción de glucosa sufrió un aumento significativo.

PALABRAS CLAVE: Furosemida; Glucosa; Calcio; Lípidos.

ABSTRACT: Diuretics typically provoke increased serum lipid levels and may provoke increased serum acid levels and/or glucose intolerance. Furosemide is widely used as antihypertensive. The metabolic effects in rats of administration of furosemide (15 mg/kg/day) are evaluated over a two-week period. At the end of this period, the plasma levels of glucose, lipids, uric acid, bilirubin, calcium, blood urea nitrogen (BUN), albumin, total proteins, creatinine and various enzymes were determined as well as the effect of the treatment on intestinal absorption of glucose and calcium. The treatment had no significant effects on plasma glucose, uric acid, cholesterol or triglycerides. Alkaline phosphatase (ALP) activity showed a clear drop while, by contrast, lactate dehydrogenase (LDH) activity showed a clear increase. Absorption of glucose was markedly faster.

KEY WORDS: Furosemide; Glucose; Calcium; Lipids.

INTRODUCTION

Furosemide is a loop diuretic derived from anthranilic acid and used in the treatment of hypertension associated with cardiac or renal pathology. It acts at the level of the ascending loop of Henle, inhibiting active uptake of chloride and reducing sodium/potassium chloride cotransport, leading to reduced osmolarity and a consequent reduction in renal reabsorption of water. Prolonged administration of furosemide has been implicated in various alterations, including increased serum renin activity and increased serum levels of catecholamines (such as adrenaline and noradrenaline) or vasopressin^(1,2). Furosemide treatment has also been reported to lead to increased serum levels of aldosterone and angiotensin II, which

may counteract the drug's otherwise anti-hypertensive effect⁽³⁾. Diuretics were first used as anti-hypertensives in the late 1950s, and were for many years considered the treatment of choice, particularly in patients with volume-dependent hypertension. In recent years, however, increased awareness of the side-effects of diuretics has led to a decline in their popularity. Most notably, a number of studies have found that diuretics increase serum levels of cholesterol and triglycerides⁽⁴⁻¹³⁾. Diuretics may also affect sensitivity to insulin and glucose tolerance (perhaps as a result of effects on potassium levels)⁽¹⁴⁻¹⁶⁾, which may provoke diabetes in predisposed patients, or worsen existing diabetes. The metabolic effects of diuretics include abnormalities of glucose metabolism as hyperinsulinemia,

hyperglycemia and peripheral insulin resistance. In addition, diuretics may induce an increase in uric acid levels, as a result of reduced excretion of urate^(17, 18). Finally, diuretics appear to increase renal excretion of calcium, provoking nephrolithiasis, post-glomerular haematuria and reduction of bone mass^(19, 20); the latter may lead to complications in subjects with osteoporosis and/or fragile bones. Various studies have suggested that, in response to this increased excretion, intestinal absorption of calcium increases, through a mechanism that has not been elucidated but that probably involves vitamin D. The aim of the work reported here was to investigate the metabolic effects of furosemide in rats. Specifically, we investigated effects on blood glucose, serum biochemistry, and intestinal absorption of glucose and calcium, in rats treated for two weeks with furosemide at 15 mg/kg/day.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Male Sprague-Dawley rats (weighing about 200 g at the start of the experiment), maintained in plastic cages at $20 \pm 2^\circ$ under a 14:10 h light:dark cycle, were used in all experiments. Animals received a commercial feed and water *ad libitum*.

Chemicals

Furosemide was from Claudio Barcia (Madrid). Since this drug is poorly soluble in water, it was administered in

a 1% hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) solution, prepared as follows: The appropriate amount of HPMC was slowly added to boiling water with constant stirring. The solution was cooled at room temperature, then left in a fridge for 24 h. The appropriate amount of furosemide was then slowly added with constant stirring. The resulting solution was stored in a cold chamber in the dark.

Experimental design

Rats were assigned to four groups of ten animals (A1, A2, B1 and B2). Rats in groups A1 and B1 received furosemide at 15 mg/kg/day, the recommended maximum dose for humans, once a day (same time each day) for 14 days. Rats in groups A2 and B2 received the HPMC solution only, likewise once a day for 14 days. The drug, or vehicle only, was administered orally via a gastric catheter.

At the end of the treatment period, groups A1 and A2 were used to assess effects on serum biochemistry, and groups B1 and B2 to assess on intestinal absorption.

At the end of the treatment period, the rats in groups A1 and A2 were maintained for 24 h without food but with water *ad libitum*, then killed by cutting the jugular vein. Blood was collected in a test tube containing 100 IU of heparin per ml of blood, then centrifuged (15 min, 3,500 rpm) to separate plasma. Blood samples were frozen until analysis. Blood biochemistry (total cholesterol, triglycerides, glucose, calcium, urea, alkaline phosphatase, albumin, total protein, total bilirubin,

creatinine, lactate dehydrogenase and transaminases) was analysed with a Spotchem SP-4410 automatic analyser (Menarini Diagnostics, Barcelona, Spain), in accordance with the manufacturer's instructions.

After maintenance for 24 h without food but with water *ad libitum*, rats in group B1 and B2 were used to investigate effects on intestinal absorption of glucose and calcium, as evaluated by the method of Ponz et al.⁽²¹⁾. Briefly, rats were anaesthetized with a 12.5% urethane solution (0.12 ml/kg, Sigma Chemical Company, St. Louis, USA); after 10 min, the abdominal cavity was opened, and a 30 cm section of the duodenum selected and ligated at each end; an input cannula was inserted proximally and an output cannula distally; physiological saline (0.1% NaCl, pH adjusted to 7.4 with 10 N NaOH) containing 2 mM glucose or 1.2 mM calcium (as calcium chloride) was then passed through at 5.5 ml min⁻¹; intestinal absorption of glucose or calcium ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{cm}$) was estimated by determining concentration in the outflow (samples taken every minute and stored at 4°C until analysis). Glucose was determined with the aid of a colorimetric kit (Spinreact, Gerona, Spain) based on the method of Trinder⁽²²⁾, and calcium with the aid of a colorimetric kit from Sigma Diagnostics (St. Louis, USA). Colorimetry was in both cases with a DU-50 spectrophotometer (Beckman Instruments, Geneva, Switzerland).

Statistical analysis

In the text, means are cited \pm stan-

TABLE I SERUM BIOCHEMISTRY OF RATS TREATED FOR TWO WEEKS WITH FUROSEMIDE. VALUES SHOWN ARE MEANS \pm SD FOR 10 ANIMALS PER GROUP

Parameter	Control	Treated
Glucose (mg/dL)	76.30 \pm 11.23	73.22 \pm 12.29
Cholesterol (mg/dL)	89.00 \pm 13.98	92.50 \pm 16.97
Triglycerides (mg/dL)	91.87 \pm 10.39	94.62 \pm 11.95
BUN (mg/dL)	11.80 \pm 2.48	11.00 \pm 2.86
Albumin (g/dL)	3.51 \pm 0.53	3.38 \pm 0.63
Calcium (mg/dL)	12.37 \pm 0.39	11.98 \pm 0.50
Tot. bilirubin (mg/dL)	0.32 \pm 0.06	0.35 \pm 0.12
Tot. prot. (g/dL)	5.03 \pm 1.15	4.81 \pm 1.43
Creatinine (mg/dL)	0.30 \pm 0.0	0.31 \pm 0.0
ALP (IU/L)	614.25 \pm 158.66	394.55 \pm 116.31*
LDH (IU/L)	276.50 \pm 165.59	604.87 \pm 190.19*
AST/GOT (IU/L)	53.50 \pm 5.95	77.37 \pm 14.66
ALT/GPT (IU/L)	18.30 \pm 4.67	17.30 \pm 8.08

BUN = Blood urea nitrogen; Tot. prot. = Total protein; ALP = Alkaline phosphatase; LDH = Lactate dehydrogenase; AST/GOT = Aspartate aminotransferase; ALT/GPT = Alanine aminotransferase. * As compared with control; $p < 0.05$.

TABLE II RATES OF INTESTINAL ABSORPTION OF GLUCOSE AND CALCIUM IN RATS TREATED FOR TWO WEEKS WITH FUROSEMIDE. VALUES SHOWN ARE MEANS \pm SD FOR 10 ANIMALS PER GROUP

Parameter	Control	Treated
Glucose (μ mol/min/cm)	1.70 \pm 0.46	2.63 \pm 0.53*
Calcium (μ mol/min/cm)	2.44 \pm 0.44	2.81 \pm 0.49

* As compared with control; $p < 0.05$.

dard deviations. Means were compared by Student's «t» test. Unless otherwise stated, statistical significance is taken to be indicated by p values of less than 0.05.

RESULTS

Blood biochemistry

The effects of furosemide (15 mg/kg for 14 days) on blood biochemistry are summarized in table I. The treatment had no significant effects on

plasma cholesterol or triglycerides, or on plasma levels of urea, glucose, calcium, creatinine, bilirubin or transaminases. Plasma levels of albumin and total protein showed a slight but non-significant decline with respect to the control group. Alkaline phosphatase activity showed a clear drop (394.55 \pm 116.31 IU in the treated group versus 614.25 \pm 158.66 IU in the control group; $p < 0.005$). By contrast, lactate dehydrogenase activity showed a clear increase (604.87 \pm 190.19 IU in the treated group versus 276.50 \pm 165.59 IU in the control group; $p < 0.005$).

Intestinal absorption of glucose and calcium

The data on intestinal absorption of calcium and glucose are summarized in table II. Absorption of calcium was slightly but non-significantly faster in the treated group than in the control group. Absorption of glucose was markedly faster (2.63 \pm 0.53 μ mol/min/cm in the treated group versus 1.70 \pm 0.46 μ mol/min/cm in the control group; $p < 0.005$).

DISCUSSION

Most studies⁽⁴⁻¹⁴⁾ to date have indicated that diuretics induce an increase in serum levels of cholesterol and triglycerides. In the present study, two weeks' treatment with furosemide had no effect on these parameters, in contrast with the results of Perola et al.⁽⁶⁾, who found that 6 weeks' treatment with furosemide plus triamterene induced a significant increase in serum levels of both cholesterol and triglycerides. However, our results are in accordance with a number of studies in which appreciable effects have not been observed until about one year after the start of diuretic treatment; indeed, in some cases diuretic treatment may lead to a short-term decline in serum lipid levels.

The mechanisms by which thiazide diuretics may affect lipid metabolism are not fully understood. It was initially suggested that thiazide diuretics may inhibit phosphodiesterase, leading to an increase in adenosine 3':5'-cyclic monophosphate levels and consequent stimulation of lipolysis, cau-

sing release to the bloodstream of fatty acids that are converted to VLDL-cholesterol in the liver. Many diuretics increase sympathetic activity, promoting the release of catecholamines (adrenaline, and particularly noradrenaline), which promote lipolysis and hepatic synthesis of cholesterol, released subsequently as VLDL-cholesterol (and thus increasing atherogenic cholesterol level)⁽²⁾. The increase in catecholamine activity is attributable to the marked reduction in blood pressure caused by many diuretics (such as spironolactone). This may explain the relatively minor effects of furosemide on serum lipid profile, since furosemide causes only a slight drop in blood pressure. This hypothesis would also explain results suggesting that ACE-inhibitors neutralize the effects of diuretics, since ACE-inhibitors are known to inhibit catecholamine release⁽²³⁾. It is well known that increased serum lipid levels are associated with an increased risk of atherosclerosis and of cardiovascular disease^(24, 25).

It has been suggested that diuretics may affect serum levels of glucose and insulin, which may in turn affect the risk of cardiovascular disease^(26, 27). Specifically, several studies^(15, 26, 27) have indicated that thiazide diuretics may provoke glucose intolerance and diabetes in predisposed patients, or worsen these problems in patients in which they already exist. These authors found that the effects of diuretics on serum glucose level are dose-dependent, and that glucose levels typically return to normal once treatment is suspended. The mechanism by which thiazide diuretics cause a reduction in insulin sensitivity is not known; one possibility is

that the effect is due to a relationship between glucose intolerance and hypokalaemia. In contrast with these previous findings, however, we did not detect any significant effect of furosemide treatment on plasma glucose levels. This is in agreement with Perola et al.⁽⁶⁾, who found that furosemide did not significantly affect serum levels of either glucose or peptide C. Similarly, Levy⁽⁷⁾ found that furosemide caused a slight but nonsignificant increase in serum glucose level. That we did not detect any significant effect in the present study may be attributable to the short treatment period tested.

We likewise failed to detect any significant effect of furosemide treatment on plasma urea level. By contrast, Perola et al.⁽⁶⁾ found that furosemide led to a significant increase in urea level. Such increases can be attributed to a reduction in blood volume, an increase in reabsorption in the proximal tubule, and reduced excretion of uric acid, in all cases due to competition between furosemide and uric acid. These previous studies found that the increase in serum urea levels can be reversed by stopping the treatment or reducing the dose.

We did not detect any significant effect of furosemide treatment on plasma calcium levels, in agreement with Perola et al.⁽⁶⁾ and Levy⁽⁷⁾, both of whom likewise used doses typical of those used for antihypertensive treatment. By contrast, Warshaw et al.⁽¹⁹⁾ and Pors Nielsen et al.⁽²⁰⁾ found that high doses of furosemide had a calciuretic effect, associated with a natriuretic effect that did not decline over time. This is attributable to inhibition by furosemide of the reabsorption of solutes

in the ascending arm of the loop of Henle, leading to a change in osmotic potential across the epithelial membrane and thus reducing reabsorption of calcium and sodium.

In the present study, we did not observe any significant effects of furosemide treatment on plasma levels of albumin, total protein or creatinine. The slight increase in mean creatinine level may be attributable to haemoconcentration. Mean rates of intestinal absorption of both glucose and calcium were significantly increased by furosemide treatment, though the effect was only statistically significant in the case of glucose. As noted above, some studies^(19, 20) have shown that furosemide increases excretion of calcium without any effect on calcium levels in serum, suggesting that intestinal absorption must increase to compensate for the loss in urine. However, there is no firm evidence to suggest that such an increase in absorption occurs, though it has been reported that rates of absorption of calcium and glucose tend to be positively correlated⁽²⁸⁾.

In conclusion, the results of this study indicate that furosemide does not have negative effects on either lipid metabolism or plasma glucose levels.

REFERENCES

1. Koushanpour E, Kriz W. *Renal Physiology*. 2nd edition. New York: Ed. Springer-Verlag, 1986.
2. Van Zwieten PA. Comparative mechanism of action of diuretic drugs in hypertension. *Eur Heart J* 1992; **13**: 2-4.
3. Griffing GT. Concomitant blockade and activation of the renin-aldosterone system by

- an angiotensin-converting enzyme inhibitor (mk-421) and hydrochlorothiazide. *Curr Ther Research* 1982; **32**: 396-405.
4. Grimm R, Leon A, Hunningake D et al. Effect of antihypertensive thiazide diuretics on plasma lipids and lipoproteins in mildly hypertension patients. *Ann Intern Med* 1981; **94**: 7-11.
 5. Grimm R. Antihypertensive therapy: taking lipids in consideration. *Am Heart J* 1991; **122**: 910-918.
 6. Perola P, Lehto H, Lammintausta R, Viikari J. Metabolic effects of furosemide and the combination of furosemide and triamterene. *Curr Ther Res* 1985; **37**: 545-553.
 7. Levy P. The efficacy and safety of furosemide and a combination of spironolactone and hydrochlorothiazide in congestive heart filiatue. *J Clin Pharmacol* 1977; **25**: 420-430.
 8. Prichard BN, Owens WI, Woolf AS. Adverse reactions to diurectics. *Eur Heart J* 1992; **13**: 96-103.
 9. Joos C, Kewitz H, Reinhold-Kourniati D. Effects of diuretics on plasma lipoproteins in healthy men. *Eur J Clin Pharmacol* 1980; **17**: 251-257.
 10. Weidman P, Courten M, Ferrari P. Effects of diuretics on the plasma lipid profile. *Eur Heart J* 1992; **13**: 61-67.
 11. Ames R, Peacock P. Serum cholesterol during treatment of hypertension with diurectic drugs. *Arch Intern Med* 1984; **144**: 710-714.
 12. Yousseff S, Osman L, Sabour MS. Serum lipoprotein profile under different antihypertensive therapy. *Int J Clin Pharm Res* 1992; **12**: 109-117.
 13. Lasser NL, Grandist G, Caggiula AW et al. Effects of antihypertensive therapy on plasma lipids and lipoproteins in the Multiple Risk factor Intervention Trial. *Amer J Med* 1984; **27**: 52-66.
 14. Amery A, Bulpitt C, Berthaux P et al. Glucose intolerance during diuretic therapy. *Br J Clin Pharmacol* 1978; **23**: 43-50.
 15. Lewis P, Kohner E, Petrie A, Dollery C. Deterioration of glucose tolerance in hypertensive patients on prolonged diurectic treatment. *Lancet* 1976; **i**: 564-566.
 16. Lithell H. Effect of antihypertensive drugs on insulin, glucose, and lipid metabolism. *Diabetes Care* 1991; **14**: 203-209.
 17. Helgeland A, Hjermann I, Holme I, Leren P. Serum triglycerides and serum uric acid in untreated and thiazida-treated patients with mild to moderate hypertension. *Am J Med* 1978; **64**: 34-38.
 18. Scott J, Higgins C. Diuretic induced gout: a multifactorial condition. *Ann Rheum Dis* 1992; **51**: 259-261.
 19. Warsaw BL, Anand SK, Kerian A, Lieberman P. The effect of chronic furosemide administration on urinary calcium excretion and calcium balance in growing rats. *Pediatr Res* 1980; **14**: 1118-1121.
 20. Pors Nielsen S, Andersen O, Steven KE. Magnesium and calcium metabolism during prolonged furosemide administration to normal rats. *Acta Pharmacol Toxicol* 1969; **27**: 469-479.
 21. Ponz F, Ilundain A, Lluch M. Method for successive absorptions with intestinal perfusion «in vivo». *Rev Esp Fisiol* 1979; **35**: 97-104.
 22. Trinder P. Calcium determination. *Ann Clin Biochem* 1969; **10**: 686-689.
 23. Weinberger MH. Influence of an angiotensin converting-enzyme inhibitor on diuretic-induced metabolic effects in hypertension. *Hypertension* 1983; **5**: 132-138.
 24. Ames RP. Metabolic disturbances increasing the risk of coronary heart disease during diurectic based antihypertensive therapy: lipid alterations and glucose intolerance. *Am Heart J* 1983; **106**: 1207-1214.
 25. Ames RP, Hill P. Antihypertensive therapy and the risk of coronary heart disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; **4**: 206-212.
 26. Brekenrige A, Welborn T, Dollery C, Fraser R. Glucose tolerance in hypertensive patients on long-term diurectic therapy. *Lancet* 1967; **i**: 60-64.
 27. Murphy M, Kohner E, Lewis P et al. Glucose intolerance in hypertensive patients treated with diuretics; a fourteen-year follow-up. *Lancet* 1982; **i**: 1293-1295.
 28. Urban E, Pena M. Failure of lactose and glucose to influence «in vivo» intestinal calcium transport in normal rats. *Digestion* 1977; **15**: 18-27.

Comparación de tres métodos de detección de polineuropatía diabética

M.A. Vicente, A. Izusquiza, I. Goicolea, J.A. Vázquez

Servicio de Endocrinología. Hospital de Cruces. Baracaldo, Vizcaya.

Aceptado: Febrero 1998.

RESUMEN: El diagnóstico precoz de la polineuropatía distal (PND) de la diabetes mellitus puede disminuir la morbilidad de esta afección como son las úlceras del pie, infecciones y las amputaciones. Una más pronta intervención conllevará unos resultados terapéuticos mejores.

Objetivos. El estudio fue realizado para comparar la sensibilidad (S) y especificidad (E) del examen clínico (EC) de signos y síntomas de la neuropatía periférica, el umbral vibratorio (UPV) medido con el biotensiómetro, y la sensibilidad al monofilamento 10G de Semmes-Weinstein (MF). Se comparan los resultados con los estudios de conducción nerviosa electromiográficos (EMG) tomados como prueba de referencia (valor oro). Doscientos cincuenta y dos diabéticos fueron evaluados en 6 semanas consecutivas.

Resultados. No se encontró correlación entre signos y síntomas de la neuropatía en el estudio clínico. La prevalencia de PND era diferente según el referente considerado, UPV, EC o MF. La S y E para el UPV > 15 volt. fue del 92 y 44% y para un UPV > 20 volt. del 82 y 60%. La S y E para el EC fue del 72 y 60%. La sensibilidad del MF era baja, 12%, pero con una alta especificidad para la PND severa, 100%.

Conclusiones. Estos datos sugieren que el UPV medido por el biotensiómetro es una técnica simple y factible para el despistaje de la PND con una E y una S aceptables.

PALABRAS CLAVE: Neuropatía diabética; Sensibilidad vibratoria; Electromiograma.

ABSTRACT: Early diagnosis of distal symmetric polyneuropathy may decrease patient morbidity, including foot ulcerations, infections and amputations. A therapeutic intervention can be applied sooner with better results.

Objective. This study was designed to compare the sensitivity (S) and specificity (E) of a clinical assessment (CA) of symptoms and signs of diabetic peripheral neuropathy, the vibratory thresholds (VT), a quantitative sensory testing (QST) and the sensibility to 10G Semmes-Weinstein monofilament (MF) compared with the gold standard of electrophysiologic nerve conduction studies (NC). 252 diabetic patients were evaluated in 6 consecutive weeks.

Results. No correlation was found between sign and symptoms in the CA. The prevalence of PND was found different if VT, CA or EMG was considered. S and E for a VT > 15 volt were 92 and 44%, for a VT > 20 volt, 82 and 60% and for CA, 72 and 60%. The sensibility of MF was low 12%, but a high specificity for severe PND was found, 100%.

Conclusions. These data suggest that the VT is a simple and reliable technique for population screening for neuropathy with a acceptable S and E.

KEY WORDS: Diabetic neuropathy; Vibratory thresholds; Electrophysiologic nerve conduction.

INTRODUCCIÓN

La polineuropatía sensoriomotora (PND) es una complicación frecuente tanto de la diabetes tipo I como II⁽¹⁾. La prevalencia es muy variable, dependiendo de la muestra estudiada. Así, en un subgrupo seleccionado del estudio DCCT con diabetes tipo I (Diabetes Control and Complications Trial) un 39% tenía PND⁽²⁾, mientras que en grupos de diabéticos tipo II, ésta oscila desde un 16% al 33%^(3, 4), aumentando su prevalencia con la edad del paciente⁽⁵⁾. Existe una gran morbilidad asociada a la PND por la aparición de callos, úlceras tórpidas e infecciones, que desembocan en el cuadro conocido

como pie diabético y en amputaciones⁽⁶⁾. La causa más común de ingreso de los diabéticos en los países desarrollados es el pie ulcerado⁽⁷⁾.

El diagnóstico precoz de la PND, al reconocer a los pies de alto riesgo, da lugar a una más pronta intervención terapéutica y con ello, una menor morbilidad⁽⁸⁾. La necesidad de una rápida identificación de los pacientes con PND conlleva la realización de una serie de exámenes y pruebas de resultados muy dispares amén de costosos y lentos.

El examen clínico de la neuropatía del pie diabético es poco preciso y reproducible. Sin embargo, se ha llegado a un consenso para la simplificación e interpretación de los síntomas y signos⁽⁹⁾ en

una escala de puntuación, lo que ha dado lugar al Diabetic Neuropatic Index (DNI) con buena correlación con las medidas electromiográficas. El umbral de percepción de la sensibilidad vibratoria (UPV) medido por el biotensiómetro es otro método de despistaje rápido y poco caro que ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de la PND⁽¹⁰⁾. Los filamentos de Semmes-Weinstein, usados como en un principio como exploración en los pacientes afectados de lepra, se utilizan también en la exploración de la sensibilidad del pie neuropático⁽¹¹⁾.

El propósito del presente trabajo es comparar la sensibilidad y especificidad de tres métodos diferentes de detectar y explorar la alteración neuropática del pie. Se ha utilizado la escala clínica de signos y síntomas (EC), la sensibilidad al monofilamento y el UPV que con un mínimo de equipamiento y tiempo pueden ser realizados en una serie de pacientes diabéticos ambulatorios frente a los estudios electromiográficos tomados como patrón oro (gold standard) más costosos, molestos y lentos realizados en el medio hospitalario).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudian 252 pacientes diabéticos que acudieron a las consultas externas de endocrinología en visita de rutina durante un período de 6 semanas. Eran mayoritariamente diabéticos tipo II y el resto, 8%, tipo I. El 45% eran mujeres. La edad media era de 59 ± 9 años y la duración media de la diabetes era de 13 ± 8 años. La edad media de comienzo de la diabetes fue 46 ± 11 años. Estaban siendo tratados un 43% con insulina, un 5% sólo con dieta y el resto con anti-diabéticos orales, sulfonilureas, biguanidas o ambos. En el momento del exa-

men clínico, efectuado a primera hora de la mañana, al paciente se le extraía una muestra de sangre para determinar hemoglobina glicosilada, HbA1c, y aportaba orina de 24 horas para determinar la excreción de albúmina.

Todos los pacientes fueron examinados por el mismo investigador usando los tres métodos de despistaje de la PND. El examen clínico (EC) está basado en el Diabetic Neuropatic Index (DNI) del Michigan Neuropathy program⁽⁹⁾ y en la escala de síntomas y signos de Young⁽⁷⁾. La primera parte consiste en un cuestionario de 15 preguntas sobre sensaciones, síntomas del paciente, lo que se valora en una escala de síntomas, en leve, moderado y severo. Tras ello, un examen de signos en ambos pies, compuesto de sensibilidad al roce-dolor, sensibilidad a la vibración del diapasón de 128 Hz y los reflejos aquileos con lo que se elaboraba también una escala de signos, en leve, moderado y severo. El criterio mínimo para el diagnóstico de PND fue la presencia de signos moderados o severos con o sin síntomas y la forma más restrictiva la presencia de signos leves con síntomas severos.

El filamento de Semmes-Weinstein (SW) se usa para determinar el umbral de percepción en la superficie plantar del dedo gordo de ambos pies. Se usó el filamento de 5,07 que necesita una fuerza de 10 g para doblarse. La falta de percepción de este filamento identifica, según Kumar⁽¹²⁾ a los portadores de una neuropatía significativa.

El umbral de percepción de la sensibilidad vibratoria (UPV) se determinó en la zona plantar del dedo gordo de ambos pies usando el biotensiómetro (Biomedical Instruments, Newbury, OH). El extremo vibrador se aplica en la zona descrita y el voltaje se aumenta gradual-

mente hasta que el paciente lo percibe. Se recogía la media de tres lecturas.

El electromiograma EMG para los estudios de conducción nerviosa, fueron realizados en pies y manos no dominantes en una habitación a temperatura constante. Se midió la velocidad de conducción sensitiva, la amplitud y la latencia del potencial evocado sensorial de los nervios sural, mediano y ulnar. También se midió la amplitud y la velocidad motora de los nervios peroneos y mediano. Se valoró, además, el conjunto de toda la exploración electromiográfica, a juicio del explorador, calificándolo en 4 grados: no PND, mínima, moderada y severa PND.

Los datos se muestran como media y desviación estándar ($X \pm SD$) o bien se expresan como Odds ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95%. Se comparan los resultados por los tests del Chi² para los valores cualitativos y ANOVA para los cualitativos y cuantitativos. La sensibilidad y la especificidad se calcularon como el cociente entre positivos verdaderos y el total de positivos y los negativos verdaderos entre el total de negativos, respectivamente. Se utiliza el test de la regresión múltiple para comparar los valores cuantitativos.

RESULTADOS

1. Examen clínico (EC). De los 252 pacientes examinados, tenían síntomas moderados un 11% y severos un 19%. Los signos moderados aparecían en un 15,5% y los severos en un 0,5%, lo cual, combinado, hacía que un 32% de los pacientes (81 pacientes) cumplieran criterios de PND. Los pacientes con PND tenían mayor edad (62 ± 6 años) y duración de la diabetes ($15 \pm 8,5$ años) que los no afectados (58 ± 10 y 12 ± 7 años, respectivamente) ($p < 0,005$). No había

diferencias en relación con el tratamiento antidiabético empleado, ni con el grado de control metabólico ni con la excreción de albúmina en orina de 24 horas. Tampoco había asociación entre la escala de síntomas y signos.

2. Biotensiómetro. Ciento once pacientes (44,4%) de los 250 estudiados tenían un UPV mayor de 15 v. en ambos pies y 74 (29,5%) mayor de 20 v. Los pacientes con EC positivo para PND tenían UPV de 22 ± 12 v frente a $14,5 \pm 7$ v. de los negativos ($p < 0,001$).

Había una asociación significativa entre pacientes con UPV > 15 y EC positivo, OR = 2,45 (1,37-4,39) ($p < 0,001$). También lo había entre UPV > 20 y el EC positivo, OR = 3,87 (2,08-7,23) ($p < 0,0001$).

El UPV estaba relacionada con los signos y con la escala de éstos de la EC del paciente pero no con los síntomas (Tabla I).

3. El monofilamento SW sólo fue negativo, no percibido, en cinco pacientes, estando asociado a UPV > 15 y > 20 ($p < 0,01$). Los pacientes con SW+ tenían una UPV de 16 ± 9 v. frente a 32 ± 8 de los SW negativos.

4. El EMG fue realizado en 75 casos. La velocidad de conducción motora (VCM) y la velocidad de conducción sensitiva se relacionaban con la escala de signos, pero no con la de síntomas (Tabla II). La VCM fue de 45 ± 4 m/s en los pacientes con UPV < 20 y de $41,8 \pm 5$ en los de > 20 ($p < 0,001$) con una velocidad de conducción sensitiva de $45,7 \pm 6$ y de $40,7 \pm 6$ m/s ($p < 0,001$), respectivamente. Existía una correlación entre VCS y UPV ($r = -0,44$) y entre VCM y UPV ($r = -0,49$) ($p < 0,05$).

5. Sensibilidad (S) y especificidad (E) de los diversos métodos. La sensibilidad y especificidad del UPV > 15 res-

TABLA I UMBRAL DE PERCEPCIÓN VIBRATORIA (UPV) SEGÚN LA ESCALA DE SIGNOS Y SÍNTOMAS DEL ESTUDIO CLÍNICO (EC)

Clase de signo	Leve	Moderado	Severo	p
UPV (v)	$13,5 \pm 6$	30 ± 11	40 ± 1	$p < 0,001$
Clase de síntoma	Leve	Moderado	Severo	
UPV (v)	16 ± 9	$17,8 \pm 8$	16 ± 9	$p = n.s$

UPV: Umbral de percepción vibratoria en voltios, v. EC: Estudio clínico de signos y síntomas. Signos leves: entre 3 y 5 puntos; signos moderados: entre 6 y 8 puntos; signos severos: entre 9 y 10 puntos; síntomas leves: entre 3 y 4 puntos; síntomas moderados: entre 5 y 6 puntos; síntomas severos: entre 7 y 9 puntos.

TABLA II VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN MOTORA (VCM) Y SENSITIVA (VCS) SEGÚN LA ESCALA CLÍNICA DE SIGNOS Y SÍNTOMAS

Escala de signos	Leve	Moderado	Severo	p
VCM (m/s)	$45 \pm 4,5$	40 ± 5	32 ± 1	$< 0,001$
VCS (m/s)	44 ± 6	39 ± 6	30 ± 1	$< 0,001$
Escala de síntomas	Leve	Moderado	Severo	
VCM (m/s)	42 ± 4	46 ± 6	43 ± 5	n.s.
VCS (m/s)	42 ± 6	43 ± 6	43 ± 7	n.s.

UPV: Umbral de percepción vibratoria en voltios, v. EC: Estudio clínico de signos y síntomas. Signos leves: entre 3 y 5 puntos; signos moderados: entre 6 y 8 puntos; signos severos: entre 9 y 10 puntos; síntomas leves: entre 3 y 4 puntos; síntomas moderados: entre 5 y 6 puntos; síntomas severos: entre 7 y 9 puntos.

pecto al EMG fue del 92 y 31% para detectar PND moderada y severa y del 92 y 44% para todo tipo de PND (mínima, moderada y severa). Un valor de UPV > 20 tenía una S del 86% y una E del 50% para PND graves y 82% y 60% respectivamente para todo tipo de PND. El EC tenía una S y E respecto al EMG del 64% y 64% en el primer caso y del 72 y 60% en el segundo caso. El filamento SW presentaba una baja sensibilidad, 12%, pero una alta especificidad, 100%.

DISCUSIÓN

La PND puede aparecer en cualquier momento desde el inicio de la diabetes, dando origen a un pie sin sensibilidad con riesgo de callos y fisuras terminando en la formación de úlceras⁽⁶⁾. Para facilitar un diagnóstico temprano se han creado una variado tipo de exámenes,

questionarios y tests para uso común por el personal sanitario, poco caros y laboriosos en su realización. En el presente trabajo se han comparado tres de estos tests: el examen clínico, mezcla de síntomas aquejados por el paciente y los hallazgos exploratorios; el test del monofilamento 10G y el UPV medido por el biotensiómetro enfrentándolo con el test admitido como más fiable, el EMG.

La prevalencia de PND en nuestro estudio (32%) queda a medio camino entre lo encontrado por Vermigli⁽¹³⁾ y el estudio del Valle de San Luis, con un 27%(14) y lo referido por Mertes del 37%(15), si bien todos ellos medidos por el mismo método, el EC. Esta prevalencia es claramente superior a la hallada por Gentile⁽¹⁶⁾ del 23%, posiblemente debido a un criterio diagnóstico diferente, el EMG. No encontramos relación entre la existencia de PND y el control metabólico actual ni con el uso

de insulina, a diferencia de Franklin⁽¹⁴⁾, si bien la duración de la enfermedad y la edad de los pacientes aparecen relacionados con ella. No encontramos relación entre los síntomas del paciente relacionados con la neuropatía y los hallazgos de la clínica, UPV o EMG, a diferencia de lo expuesto por Tjon-a-Tsien, que encuentra una correlación tanto con los signos hallados o el UPV, si bien con S muy bajas, 63 y 25%⁽¹⁷⁾.

El UPV medido por el biotensiómetro discrimina como grupo a los afectos de PND, tanto los estudiados por EC como por EMG. Las S del UPV a los puntos discriminantes de 15 y 20 v son buenas aunque las E sean bajas a 15 y bastante mejores a 20, entre el 50-60%. En otras series, la sensibilidad del UPV respecto al EMG fue del 97%⁽¹⁶⁾, similar al 92% de nuestra serie, al tomar 15 v. como valor de corte, si bien su especificidad fue mejor. La correlación entre UPV y EMG ($R = 0,44-0,49$) es similar a la serie de Michigan⁽⁹⁾. La S del UPV (> 35 v) para distinguir un futuro pie de riesgo es, en manos de Boulton⁽¹⁸⁾, del 92%, similar a lo hallado aquí respecto al EMG patológico, pero con una S mejor, del 85%.

La S y E del EC en nuestras manos, 60 y 72%, queda muy lejano, en cuanto a resultados, de los obtenidos por Gentile⁽¹⁶⁾, con un 89 y 93% respectivamente, y por Feldman⁽⁹⁾, con un 80 y 95%.

No encontramos al monofilamento SW de 5,07 gran utilidad como diagnóstico de screening, con una S muy baja, a diferencia de Staudemeyer⁽¹⁹⁾, aunque sí para confirmar una PND severa.

En conclusión, en nuestra serie los mejores resultados para diagnosticar una PND los encontramos con el UPV tanto a umbrales mayores de 20 v. o mayores de 15 v., siendo una prueba apta para el despistaje en la práctica diaria de la con-

sulta especializada por su sencillez y rapidez. El estudio clínico, algo más laborioso, ofrece menores índices de acierto que la prueba de la sensibilidad vibratoria aunque ésta, por el contrario, requiera el necesario instrumental. El monofilamento 10G por sí solo no ofrece gran utilidad en el despistaje de la PND. Tal vez la combinación de varios monofilamentos ofrezca mejores resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pirart J. Diabetes mellitus and tis degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care* 1978;**1**:168-188.
2. The DCCT research group. Factors in the development of diabetic neuropathy: baseline analysis of neuropathy in the feasibility phase of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1988;**37**:4476-4481.
3. Veglio M, Sivieri R. Prevalence of neuropathy in IDDM patients in Piemonte, Italy. *Diabetes Care* 1993;**16**:456-461.
4. Fedele D, Comi G, Coscelli C, Cucinotta D, Feldman E y cols. A multicenter study on the prevalence of diabetic neuropathy in Italy. *Diabetes Care* 1987;**20**:836-843.
5. Young MJ, Boulton AJMC, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicenter study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia* 1993;**36**:150-154.
6. Greene DA, Sima AF, Stevens MJ, Feldman EL, Lattimer SA. Complications: neuropathy, pathogenic considerations. *Diabetes Care* 1992;**15**:1902-1925.
7. Young MJ, Veves A, Boulton AJM. The diabetic foot: aetiopathogenesis and management. *Diabetes Metab Rev* 1993;**9**:109-127.
8. Boulton AJM. The diabetic foot: of neuropathic aetiology? *Diabet Med* 1990;**7**:852-858.
9. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two steps quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 1994;**17**: 1281-1289.
10. Young MJ, Breddy J, Veves A, Boulton AJM. The prediction of diabetic neuropathic foot ulceration using vibration perception thresholds. *Diabetes Care* 1994;**17**:557-560.
11. Birke JA, Sims DA. Plantar sensory threshold in the ulcerated foot. *Lepr Rev* 1986;**57**:261-267.
12. Kumar S, Fernando DJS, Veves A, Knowles EA, Young MJ, Boulton AJM. Semmes-Weinstein monofilaments: a simple, effective and inexpensive screening device for identifying diabetic patients at risk of foot ulceration. *Diabetes Resc Clin Pract* 1991;**13**: 63-68.
13. Vermigli C, Carrington A, Boulton AJM. The prevalence of foot deformities and neuropathy in people with diabetes: a population based study. *Diabetologia* 1996;**39**(Suppl 1):A263.
14. Franklin GM, Shetterly SM, Cohen JA, Baxter J, Hamman RF. Risk factors dor distal symmetric neuropathy in NIDDM. The San Louis Valley Diabetes Study. *Diabetes Care* 1994;**17**:1172-1177.
15. Mertes B, Muller UA, Hofken K. Comparison of different clinical methods for diagnosis of diabetic peripheral neuropathy with 768 hospitalised patients. *Diabetologia* 1996;**39**(Suppl 1):A258.
16. Gentile S, Turco S. Southern Italy Multicentre Study on Diabetic Neuropathy. Sensitivity and specificity of signs, symptoms and vibratory perception: multicentre study on diabetic renopathy. *Diabetologia* 1996;**39**(Suppl. 1):A258.
17. Tjon-A-Tsien AML, Groenen SMA, Grootenhuis PA, Lemkes HHP. Clinical significance of standardized neuropathy questioning. *Diabetologia* 1996;**39**(Suppl 1):A257.
18. Vileykite L, Hutchings G, Hollis S, Boulton AGM. The tactile circumferential discriminator: a new, simple, screening device to identify diabetic patients at risk of foot ulceration. *Diabetes Care* 1997;**20**:623-626.
19. Staudemeyer A, Zick R, Eslage M. 10G Semmes Weinstein monofilament: a simple and accurate screening instrument to prevent complications of the diabetic foot. *Diabetologia* 1996;**39**(Suppl 1):A1010.

Concentraciones séricas de apolipoproteínas A1 y B en diabéticos: Influencia de la hipertensión y microalbuminuria*

M. Tagle Luzárraga¹

¹Presidente de la Sociedad Ecuatoriana de Endocrinología. Director del Curso de Postgrado de Endocrinología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Guayaquil. Servicio de Endocrinología del Hospital Teodoro Maldonado Carbo, Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Guayaquil, Ecuador.

* Presentado en el IV Congreso Ecuatoriano de Endocrinología y Diabetes. Guayaquil, Ecuador. 25-27 septiembre de 1996.

Correspondencia: Dr. Marino Tagle, Casilla 09-01-3383 Guayaquil, Ecuador.

Aceptado: Febrero 1998

RESUMEN: El objetivo del estudio fue investigar si las anomalías específicas de las apolipoproteínas A1 (Apo A1) y B (Apo B) están presentes en pacientes con diabetes mellitus no insulinodependientes (DMNID) con hipertensión y/o microalbuminuria.

Se estudiaron 84 sujetos con DMNID y 18 controles de ambos sexos. Entre los diabéticos 30 eran normotensos normoalbuminúricos, 25 hipertensos normoalbuminúricos, 10 normotensos microalbuminúricos y 19 hipertensos microalbuminúricos.

Todos los subgrupos de diabéticos con o sin hipertensión y microalbuminuria tuvieron niveles más elevados de Apo B que los controles ($p < 0,05$). No encontramos diferencias significativas entre los diferentes subgrupos en lo relacionado a las Apo A1. El cociente Apo A1/B estaba disminuido en los diabéticos normotensos microalbuminúricos frente a los controles ($p < 0,05$) y el cociente Apo B/A1 fue mayor en los diabéticos hipertensos microalbuminúricos frente a los controles ($p < 0,05$).

En conclusión, en este estudio se demostró que los diabéticos en general, tienen niveles más elevados de Apo B que la población no diabética, independientemente de la presencia o no de hipertensión y microalbuminuria. La microalbuminuria no disminuye el cociente Apo A1/B y, asociada a la hipertensión, aumenta el cociente Apo B/A1 en los diabéticos no insulinodependientes.

PALABRAS CLAVE: DMNID; Apo A1-B; Hipertensión; Microalbuminuria.

ABSTRACT: The roll of type II diabetes as a cardiovascular risk factor is clearly established. Also arterial hypertension, alterations in the lipidic metabolism and microalbuminuria could be present in the diabetic patient, worsening the cardiovascular risk.

The objective of this study is to investigate in the specific anomalies of apolipoprotein A1 (Apo A1) and apolipoprotein B (Apo B), are present in patients with type II diabetes and hypertension and/or microalbuminuria.

We studied 84 subjects with type II diabetes and 18 control subjects. In both groups, there were men and women. Among the diabetic patients, 30 had normal blood pressures and were normoalbuminuric (H- M-), 25 had hypertension and were normoalbuminuric (H+ M-), 10 had normal blood pressures but had microalbuminuria (H- M+) and 19 had hypertension and also had microalbuminuria (H+ M+). The urinary excretion of 20 to 200 mg/dL of albumina was considered microalbuminuria. The Apo A1 and Apo B were determined by nephelometry method.

All the subgroups of diabetics with or without hypertension and microalbuminuria had higher levels of Apo B than the controls ($p < 0.05$). We didn't find significant differences among the different subgroups in what concerns to Apo A1. The quotient Apo A1/B was diminished in the diabetics microalbuminuric with normal blood pressures when were compare them with the controls ($p < 0.05$) and the quotient Apo B/A1 was greater in the diabetics that had hypertension and microalbuminuria when we compare them with the controls ($p < 0.05$).

In conclusion, this study proved that diabetics have igher levels of Apo B than the non diabetic population, independently of the presence or not of hypertension or microalbuminuria. Diabetes, hypertension or microalbuminuria do not influence Apo A1. However, microalbuminuria decreases the quotient Apo A1/B and, associated to hypertension, increases the quotient Apo B/A1 in the type II diabetics.

KEY WORDS: Type II diabetes; Apo A1; Apo B; Hypertension; Microalbuminuria.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus no insulinodependiente (DMNID) es un factor de riesgo cardiovascular (FRCV)^(1, 2). Un buen número de FRCV pueden estar presentes en pacientes con DMNID: hasta el 50% sufren hipertensión arterial

(HTA)^(3, 4); en cerca del 60% de los pacientes se hallan anomalías lipídicas que comprenden niveles elevados de triglicéridos (TG) y descensos de las lipoproteínas de alta densidad (cHDL)^(5, 6); trastornos en las apolipoproteínas también pueden estar presentes^(7, 8). La prevalencia de microalbuminuria en los dia-

béticos oscila entre el 12 y 50%⁽⁸⁻¹¹⁾. Los diabéticos insulino-dependientes (DMID) con microalbuminuria presentan niveles significativamente más elevados de presión diastólica y de colesterol⁽¹²⁾.

En la DMNID la microalbuminuria es un hallazgo muy frecuente en el momento del diagnóstico de la diabetes, aunque su importancia no está tan clara como en la DMID. Parece ser un factor de predicción de la mortalidad, fundamentalmente la de causa cardiovascular⁽¹³⁻¹⁵⁾, pero no se sabe si se trata de un factor pronóstico de la nefropatía diabética ni cuales son sus relaciones con la presión arterial, los lípidos y la enfermedad cardiovascular.

El diabético tiene, por lo tanto, severas desventajas en términos de riesgo cardiovascular alrededor de los trastornos lipídicos, tensionales, de los factores de coagulación y la microalbuminuria. Esto hace que la detección y control tempranos de estos desórdenes sean mucho más importantes en los diabéticos que en la población general.

El objetivo del estudio fue investigar si anomalías específicas en las apolipoproteínas A1 y B están presentes en pacientes con DMNID con hipertensión y/o microalbuminuria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se estudiaron 84 sujetos diabéticos no dependientes de insulina y 18 controles, de ambos sexos, que acudieron a la consulta ambulatoria de Endocrinología del Hospital Teodoro Maldonado Carbo del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Entre los sujetos

TABLA I EDAD DE LOS SUJETOS CON DIABETES MELLITUS NO INSULINO-DEPENDIENTE (DMNID) Y DE SUJETOS CONTROLES

Grupos	n	Edad
DMNID (H- M-)	30	56,3 ± 10,2
DMNID (H+ M-)	25	65,2 ± 10,5
DMNID (H- M+)	10	59,9 ± 11,2
DMNID (H+ M+)	19	55,4 ± 13,1
Controles	18	40,8 ± 11,1

H- M-: Normotensos normoalbuminúricos; H+ M-: Hipertensos normoalbuminúricos; H- M+: Normotensos microalbuminúricos; H+ M+: Hipertensos microalbuminúricos; n: Número de sujetos; Edad: promedio en años ± DE; *: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,02$.

diabéticos, 30 eran normotensos normoalbuminúricos, 25 hipertensos normoalbuminúricos, 10 normotensos microalbuminúricos y 19 hipertensos microalbuminúricos. Los sujetos controles eran personas de la población general sin evidencias clínicas ni bioquímicas de diabetes, hipertensión o microalbuminuria. El diagnóstico de diabetes se basó en una concentración de glucosa en ayunas de más de 140 mg/dL en, por lo menos, dos ocasiones. Los sujetos fueron definidos como no dependientes de insulina sobre la base de criterios clínicos, incluyendo edad de inicio de la diabetes, ausencia de cetosis y ausencia de necesidad de terapia insulínica. Para la toma de la presión arterial se empleó un esfigmomanómetro de mercurio. Se consideró hipertensión a cifras mayores de 140/90 mmHg en reposo.

Datos de laboratorio

En todos los pacientes se obtuvo una muestra de sangre venosa después

de 12 horas de ayuno para la determinación por nefelometría⁽¹⁶⁾ de las Apo A1 y B. La microalbuminuria se determinó utilizando el método semicuantitativo por tira reactiva (Micral test, Boehringer Mannheim⁽¹⁷⁾) en orina recolectada por la mañana después de levantarse. La medida se repitió por lo menos en dos ocasiones. Se consideró microalbuminuria positiva una excreción de albúmina entre 20 y 200 mg/dL⁽¹⁸⁾.

Análisis estadístico

Se obtuvieron las medidas y desviación estándar para todos los parámetros analizados entre sujetos diabéticos y controles y entre los diferentes grupos de diabéticos. La significación estadística se obtuvo aplicando la prueba de la «t» de Student.

RESULTADOS

La edad de los pacientes y controles se muestra en la tabla I.

TABLA II PROMEDIO DE APOLIPOPROTEÍNAS EN SUJETOS CON DIABETES MELLITUS NO INSULINO-DEPENDIENTES (DMNID) Y EN SUJETOS CONTROLES

Grupos	n	Apo A1	Apo B
DMNID (H- M-)	30	134,0 ± 26,8	150,5 ± 40,2
DMNID (H+ M-)	25	137,9 ± 20,4	158,1 ± 46,5
DMNID (H- M+)	10	143,8 ± 29,3	169,0 ± 47,9
DMNID (H+ M+)	19	134,7 ± 28,2	167,4 ± 45,6
Controles	18	135,8 ± 24,4	126,4 ± 36,5

H- M-: Normotensos normoalbuminúricos; H+ M-: Hipertensos normoalbuminúricos; H- M+: Normotensos microalbuminúricos; H+ M+: Hipertensos microalbuminúricos; n: Número de sujetos; Apo A1: Apolipoproteínas A1; valor normal: hombres 96-176 mg/dL; mujeres: 109-203 mg/dL; Apo B: Apolipoproteínas B; valor normal: hombres < 133 mg/dL; mujeres < 126 mg/dL; *: p < 0,01; **: p < 0,02; ***: p < 0,05.

TABLA III ÍNDICE PROMEDIO DE APOLIPOPROTEÍNAS A1/APOLIPOPROTEÍNAS B (Apo A1/Apo B) Y DE Apo B/Apo A1 EN SUJETOS CON DIABETES MELLITUS NO INSULINODEPENDIENTES (DMNID) Y EN SUJETOS CONTROLES

Grupos	n	Apo A1/Apo B	Apo B/Apo A1
DMNID (H- M-)	30	0,95 ± 0,33	1,15 ± 0,41
DMNID (H+ M-)	25	1,00 ± 0,58	1,18 ± 0,40
DMNID (H- M+)	10	0,87 ± 0,13	1,16 ± 0,16
DMNID (H+ M+)	19	0,86 ± 0,32	1,28 ± 0,38
Controles	18	1,18 ± 0,49	0,98 ± 0,46

H- M-: Normotensos normoalbuminúricos; H+ M-: Hipertensos normoalbuminúricos; H- M+: Normotensos microalbuminúricos; H+ M+: Hipertensos microalbuminúricos; n: Número de sujetos; *: p < 0,05.

El promedio de Apo A1 y B en sujetos diabéticos y en controles se puede observar en la tabla II. Todos los grupos de diabéticos tuvieron niveles más elevados de Apo B que los controles. No se encontraron diferencias significativas para las Apo A1 en ninguno de los subgrupos estudiados.

En la tabla III se evidencian los cocientes Apo A1/Apo B y Apo B/Apo A1 en sujetos diabéticos y en controles. Los diabéticos normotensos con microalbuminuria tuvieron el cociente Apo A1/B más bajo que los controles (p < 0,05). Los diabéticos hipertensos

microalbuminúricos tuvieron el cociente Apo B/Apo A1 más alto que los controles (p < 0,05).

DISCUSIÓN

Un número importante de FRCV pueden acompañar a los pacientes con DMNID, tales como la HTA y anomalías lipídicas que incluyen elevación de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL, TG, apolipoproteína (a) y Apo B y disminución de las cHDL y Apo A1. Al menos el 30% de los sujetos con

DMNID presentan estas alteraciones⁽¹⁹⁾, los cuales son poderosos indicadores de riesgo para enfermedad arterial coronaria (EAC)⁽²⁰⁾. Estudios previos han mostrado que en pacientes con DMNID con elevada excreción urinaria de albúmina se encuentra una mayor prevalencia de HTA en comparación con pacientes normoalbuminúricos. Esta diferencia persiste después de realizar el ajuste por edad y duración conocida de la diabetes^(13, 21).

Es interesante el hallazgo de que la microalbuminuria también se encuentra asociada con niveles anormales de lípidos plasmáticos⁽²²⁾. La nefropatía del diabético insulino dependiente, a medida que progresa se acompaña de aumentos de las cLDL, de las lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL) y de los TG, así como la disminución de las cHDL^(23, 24). Por lo tanto, los diabéticos presentan ya en el estadio de microalbuminuria todas las características que aumentan típicamente el riesgo de complicaciones renales y cardiovasculares.

Nuestro estudio, realizado en sujetos con DMNID, estuvo dirigido a investigar si la HTA y la microalbuminuria producen anomalías específicas en el metabolismo de las Apo A1 y B. En relación con la edad de la población estudiada, los sujetos diabéticos fueron más añosos que los controles. Se constata un incremento de las concentraciones séricas de Apo B en todos los subgrupos de diabéticos frente a los controles, independientemente de la prestación o no de HTA y microalbuminuria. No encontramos influencia de la HTA y microalbuminuria sobre las Apo A1.

Las apolipoproteínas tienen la

capacidad de glucosilarse^(25,26), de tal forma que en sujetos con DMNID, especialmente con mal control metabólico, se ha descrito un incremento de la glucosilación de Apo B y Apo A1⁽²⁷⁾. Estas modificaciones explicarían el patrón de concentración de hiper Apo B observado en todos los subgrupos de pacientes con DMNID en el presente estudio.

Los diabéticos con microalbuminuria tuvieron el cociente Apo B/Apo A1 más alto y el cociente Apo A1/Apo B más bajo que los controles, mientras que los diabéticos hipertensos normoalbuminúricos no se diferenciaron de los controles en el comportamiento de estos pacientes. En la DMNID la excreción urinaria de albúmina aumentada, al parecer, refleja la permeabilidad vascular. Una alta permeabilidad predispone a una mayor penetración de partículas lipoproteicas aterogénicas en la pared arterial⁽²⁸⁾. En los diabéticos con mal control metabólico y microalbuminuria, la glucosilación no enzimática de las Apo B determinaría una interferencia en la captación tisular de cLDL disminuyendo su catabolismo, mientras que la glucosilación no enzimática de las Apo A1 favorecería el catabolismo de las cHDL⁽²⁷⁾. La presencia de microalbuminuria se convertiría, por lo tanto, en un poderoso predictor de mortalidad cardiovascular y de otras causas en pacientes con DMNID⁽¹³⁻¹⁵⁾.

En conclusión, en este estudio se demuestra un incremento de las concentraciones séricas de Apo B en todos los subgrupos de diabéticos, independientemente de la presencia o no de HTA y/o microalbuminuria. Los diabéticos con microalbuminuria tuvieron el cociente Apo B/Apo A1 más alto y

el cociente Apo A1/Apo B más bajo que los controles. El subgrupo de diabéticos que aglutina el conjunto de FRCV: microalbuminuria, Apo B y Apo B/Apo A1 elevados y Apo A1/Apo B disminuido, detentaría el mayor riesgo para el desarrollo de EAC.

BIBLIOGRAFÍA

- Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague GA, Kelley JL, Cayatte AJ, Rosek MH. Pathogenesis of the atherosclerotic lesion: implications for diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1992; **15**: 1156-1167.
- Schwartz CJ, Valente AJ. Atherogenesis and coronary heart disease: cellular mechanisms. En: Alberti KGMM, De Fronzo RA, Zimmet P (eds). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. 2nd ed. London: John Wiley, 1994.
- Gómez F, Salazar P, González L, Torresanp L, Vera F, Tagle M. Fibrinógeno, Lípidos, *Enfermedad Arterial Coronaria y DMNID. Educación Médica Continuada* 1996 (en prensa).
- López G. Hipertensión arterial y diabetes mellitus. En: García de los Ríos M, Tapa JC, López G, Durruty A (eds). *Diabetes Mellitus*. 2ª ed. Santiago de Chile: Fundación de Investigación y Perfeccionamiento Médico, 1992.
- Stern MP, Petterson JK, Haffner SM, Hazuda HP, Mitchell BD. Lack of awareness and treatment of hyperlipidemia in type II diabetes in a community survey. *JAMA* 1989; **262**: 360-364.
- American Diabetes Association. Consensus Statement: Detection and management of lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care* 1993; **16** (Suppl 2): 106-112.
- Guerron A, Arroyo M, De la Torre W, Bernal N, López G, Freire E. Concentraciones séricas de apolipoproteínas (Apo B, Apo A1) en DMNID: Influencia del sexo, control metabólico y función renal. *Avances en Diabetología* 1993; **6**: 23-31.
- Tagle M, Salazar P, Gómez F, Vera F, González L, Verdesoto M. Fibrinógeno, Lípidos, Enfermedad Arterial Coronaria y Diabetes. *Asoc Latinoam de Diab* 1995; **3**: 137.
- Tung P, Levin SR. Nephropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1988; **85** (Suppl 5A): 131-135.
- Verhoeven S, Van Ballegooie E, Casparie AF. Impact of late complications in type II diabetes in a Dutch population. *Diabetic Med* 1991; **8**: 435-438.
- Friedman EA. Diabetic Nephropathy: Progress in treatment, potential for prevention. *Diabetes Spectrum* 1988; **2**: 86-95.
- Ramírez L, Rosenstocks J, Arquez C. Low prevalence of microalbuminuria in normotensive patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1991; **12**: 85-90.
- Gall MA, Rossing P, Skott P. Prevalence of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type II (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1991; **34**: 655-661.
- Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 1984; **310**: 356-360.
- Morrish NJ, Stevens LK, Head J. A prospective study of mortality among middle-aged diabetic patients II (the London Cohort of the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics). Associated risk factors. *Diabetologia* 1990; **33**: 542-548.
- Stemberg JC. A rate Nephelometer for Measuring Specific Protein by Immunoprecipitin Reactions. *Clin Chem* 1977; **23**: 1456-1459.
- Sawicki DT, Heinemann L, Berger M. Comparison of methods for determination of microalbuminuria in diabetic patients. *Diabetic Medicine* 1989; **6**: 412-415.
- Hasslacher Ch. Diagnostische Überwachung

- und Therapie in den Stadien der diabetischen Nierenerkrankung. *Aktuel Endokrind Staffwechsel* 1989; **10** (Suppl): 60-63.
19. Betteridge DJ. Lipids, Diabetes and Vascular Disease: The time to act. *Diabetic Med* 1989; **6**: 195-218.
20. Laakso M, Lehto S, Penttila I, Pyorala K. Lipids and lipoprotein predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Circulation* 1993; **88**: 1421-1430.
21. Wolffenbuttel BHR, Van Kimmerrade R, Seles JPJE, Nieuwenhuijzen Kruseman AC. Prevalence of diabetic complications related to albuminuria in patient with non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) treated in a hospital outpatient clinic. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1992; **2**: 63-68.
22. Jones SL, Close CE, Mattock MB. Plasma lipid and coagulation factor concentrations in insulin-dependent diabetics with microalbuminuria. *Br Med J* 1989; **298**: 487-490.
23. Vannini P, Ciavarella A, Flammini M. Lipid abnormalities in insulin-dependent diabetic patients with albuminuria. *Diabetes Care* 1984; **7**: 151-154.
24. Jensen T, Stender S, Deckert T. Abnormalities in plasma concentration of lipoprotein and fibrinogen in type I (insulin-dependent) diabetic patients with increased urinary albumin excretion. *Diabetologia* 1988; **31**: 142-145.
25. Scott J. The molecular and cell biology of apolipoprotein B. *Mol Bio Med* 1989; **6**: 65-80.
26. Bamberger MJ, Lane D. Assembly of very low density lipoprotein in the hepatocyte: Differential transport of apoproteins through the secretory pathway. *J Biol Chem* 1988; **263**:11868-11878.
27. Iwai M, Yoshino G, Matsushita M. Abnormal lipoprotein composition in normolipidemic diabetic patients. *Diabetes Care* 1990; **13**: 792-796.
28. Mattock MB, Morrish NJ. Prospective study of microalbuminuria as predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes* 1992; **41**: 736-741.

Automonitorización glucémica y control metabólico en el diabético adulto: Estudio de coste-beneficio

I. Goicolea, Y. Alonso, G. Villar, Y. García, J.A. Vázquez

Servicio de Endocrinología.

Hospital de Cruces. Baracaldo, Vizcaya.

Correspondencia: I. Goicolea, Servicio de Endocrinología, Hospital de Cruces, 48903 Baracaldo (Vizcaya).

Aceptado: Marzo 1998

RESUMEN: El control metabólico es importante a largo plazo para prevenir las complicaciones crónicas en la diabetes mellitus. En diabéticos jóvenes insulino-dependientes, el autocontrol glucémico permite una vida autónoma y la posibilidad de lograr un control glucémico óptimo. Sin embargo, no es claro si en otros colectivos, diabéticos tipo II y mayores especialmente, esto es evitable. Se estudian 114 sujetos diabéticos tipo II, insulino y no insulino-dependientes, mayores de 50 años, con una edad media de 66 ± 7 años, con una duración de la diabetes de 13 ± 8 años; se sigue durante un año su control metabólico y glucémico. Fueron divididos en función de si, de una manera autónoma, se chequean la glucemia (grupo A) por medio de un reflectómetro, o dependen de la enfermera para ello (grupo B). Se compara el control previo de hemoglobina glicosilada, glucemias medias, frente al posterior, frente al posterior, tanto si son del grupo poseedor del glucómetro como no. Al inicio, la HbA1c era de $7,9 \pm 1,3\%$ en el grupo A y de $7,7 \pm 1,3\%$ en el grupo B. La glucemia media durante el año pasó en el grupo A de 150 ± 44 mg/dL a 126 ± 28 mg/dL ($p = 0,001$) frente al grupo B, que de 148 ± 33 mg/dL pasó a 136 ± 32 mg/dL ($p = 0,06$), no habiendo diferencias entre ambos grupos al principio pero sí al final del estudio ($p = 0,044$). Al cabo de un año de tratamiento la HbA1c descendía de forma significativa en ambos grupos; en el grupo A pasó a $7 \pm 0,9\%$ ($p = 0,001$) y a $7 \pm 1\%$ en el grupo B ($p = 0,05$), no existiendo diferencias entre ambos grupos ($p = 0,9$). El número de controles anuales realizados por el grupo A fue de 272 ± 188 , con un rango entre 25 y más de 600 controles anuales frente a 14 ± 3 del grupo B, con un rango entre 10 y 24 controles ($p = 0,0001$). El total del coste anual asciende a 55.906 ± 29.177 pesetas/año para el grupo con reflectómetro y de 7.131 ± 2.013 pesetas/año para el grupo sin él (B) ($p = 0,0001$). En conclusión, el control glucémico a cargo de la enfermera educadora puede ser un método adecuado para colectivos de enfermos diabéticos mayores con un coste muy inferior del tradicional control individual con reflectómetro.

PALABRAS CLAVE: Diabetes mellitus no insulino-dependiente; Autocontrol glucémico; Hemoglobina glicosilada; Educación diabetológica.

ABSTRACT: Optimal glycemic control effectively delays the onset and slows progression of long term diabetes complications not only in type I but also in type II patients. Monitoring blood glucose is an indispensable tool to achieve good metabolic control. We compared the effect self-monitoring versus nurse monitoring blood glucose on metabolic control in type II diabetic elderly patients. We studied 114 type II diabetic patients with mean age 66 ± 7 years and 13 ± 8 years of diabetes evolution. The patients were randomized in two different groups. Group A: patients self monitored their blood glucose with a glucometer and Group B: patients were controlled periodically by a specialist nurse in diabetes. All patients have the choice to do a educational trial in diabetes to ameliorate their knowledge. HbA1c, glycemic control, exercise diet compliance and economic cost were compared after a year of treatment.

HbA1c decreased from $7.9 \pm 1.3\%$ in group A to $7 \pm 0.9\%$ ($p = 0.001$) and from $7.7 \pm 1.3\%$ to $7 \pm 1\%$ in group B ($p = 0.05$) and mean glucemic control evolved from 150 ± 44 mg/dL to 126 ± 28 mg/dL ($p = 0.001$) and from 148 ± 33 mg/dL to 136 ± 32 mg/dL ($p = 0.06$) respectively. The mean number of glycemic measurements made per patients and year in group A were 272 ± 188 and 14 ± 3 in group B ($p = 0.001$). The number of visits for glycemic adjustment to the nurse were 3 ± 4 per year in group A and 13.6 ± 3.7 in group B ($p = 0.001$). No differences were found in weight or exercise practice between both groups. The annual treatment cost was estimated in 55.906 ± 29.177 pesetas/year for patients in group A and 7.131 ± 2.013 pesetas/year for patients of group B ($p = 0.0001$). In conclusion, metabolic control in type II diabetic patients over 50, achieved with the help of a specialized nurse is cheaper and as good as the glucose control reached by patients with self blood monitoring with a glucometer.

KEY WORDS: Self-monitoring; Non-insulin-dependent diabetes mellitus; Glicosilated haemoglobin; Diabetic education.

INTRODUCCIÓN

Desde siempre ha sido importante la educación de los pacientes diabéticos. Ya desde los primeros años, tras

el descubrimiento de la insulina, Joslin⁽¹⁾ organizó clases de educación y escribió manuales para diabéticos en los años veinte. Sin embargo, han debido pasar más de 50 años para que la

educación sea plenamente aceptada e implementada en todos los centros⁽²⁾. El diabético debe compartir la responsabilidad en el tratamiento de la enfermedad y decidir, día a día, sobre la dieta, el ejercicio, etc., sin esperar al momento de la consulta médica. Sin embargo, se ha demostrado⁽³⁾ que hasta el 90% de los diabéticos que chequean su glucemia tienen deficiencias serias en sus conocimientos y no alcanzan un control óptimo de su diabetes.

Por otro lado, en estudios realizados un año después de la realización de un curso de educación diabetológica^(4, 5), los cuestionarios de conocimiento sobre la diabetes se cumplimentan con menos errores que antes del curso de educación, pero el control metabólico de la diabetes no mejora. La simple mejoría del conocimiento no lleva consigo un mejor control metabólico, lo que no quiere decir que la educación no sea útil, sino que no es suficiente⁽⁶⁾. Hay que pasar de esos conocimientos a la acción.

La mejoría en los últimos años de los aspectos técnicos del manejo de la diabetes: jeringas indoloras, pautas insulínicas más adecuadas, reflectómetros más sencillos, han facilitado la labor del educador. La popularización de las máquinas medidoras de glucosa y su simplificación han generalizado su uso, con el incremento del gasto en material fungible, existiendo dudas sobre el beneficio real que pueden aportar, salvo el psicológico, sobre el control metabólico.

En el presente estudio hemos querido comparar la efectividad de dos grupos de tratamiento sobre el control metabólico: el paciente diabético autónomo, provisto de un aparato medidor

de glucosa, frente a los pacientes sin reflectómetro bajo la asistencia directa o supervisión de la enfermera educadora, ambos con la posibilidad de un conocimiento previo adquirido en la educación diabetológica. También hemos querido conocer el coste por paciente de ambos métodos de control durante este año de seguimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron, previo consentimiento para participar en el estudio, una serie de pacientes diabéticos de 50 años de edad, tratados de forma habitual en la consulta de Endocrinología de Portugalete (Vizcaya), y que no efectuaban controles glucémicos domiciliarios. Los pacientes fueron aleatoriamente divididos en dos grupos. Grupo A: pacientes a los que se recomendó el control glucémico domiciliario, disponiendo de un reflectómetro para medición, ellos mismos, de la glucemia capilar; y grupo B: pacientes a los que se les desaconsejó la compra del aparato medidor de glucemia y se optó por una determinación glucémica más esporádica realizada por la enfermera educadora.

El grupo A fue instruido en el manejo del reflectómetro por la enfermera educadora de forma individual, pudiendo efectuar tantos controles como quisieran, debiendo apuntarlos en un libro de registro glucémico. Los medidores empleados fueron los habituales de última generación, cedidos por las casas comerciales. Los pacientes del grupo A no efectuaban, tras el curso de aprendizaje, visitas de rutina a la enfermera educadora, haciéndolo

trimestralmente al especialista que modificaba la medicación en función de los resultados. El grupo B, por el contrario, era vigilado periódicamente por la enfermera educadora que efectuaba los controles glucémicos y modificaba la medicación con insulina o antibiabéticos; también acudían, como en el caso del grupo A, a las consultas de Endocrinología de forma periódica para revisión por el especialista, cada tres meses.

A todos los pacientes se les aconsejó que realizaran, antes de someterse al estudio, un curso de educación diabetológica de 5 días de duración y 10 horas de clases, estandarizado y convalidado por la Asociación de Educadores en Diabetes de Vizcaya. Este curso proporciona conocimientos básicos sobre temas de nutrición, tratamiento y síntomas de la hipoglucemia e hiperglucemia, complicaciones crónicas, etc.

El estudio duró 12 meses. Se recogió como variable de estudio la hemoglobina glicosilada (HbA1c) antes y al año del comienzo del estudio. Los pacientes guardaban el cuaderno de recogida de datos donde anotaban las glucemias y con ellas se calculaban las glucemias medidas durante el estudio. Asimismo, por los registros glucémicos del trimestre anterior, antes del estudio se calcularon las glucemias medias previas al estudio. Se contabilizó el número de controles glucémicos efectuado durante el año por ambos grupos, calculándose el número de tiras reactivas empleadas. También se controlaron otras variables que podían influir en el control metabólico, como el ejercicio y el peso, así como el seguimiento de la dieta. El ejercicio se calculaba por

el tiempo que dedicaban diariamente a ello o el número de kilómetros recorridos a diario.

Para evaluar el coste económico durante el año de estudio, se computó: 1) el número de tiras que multiplicado por el coste de cada tira, nos da el coste total por persona en tiras reactivas; 2) el coste del aparato medidor de glucosa (coste medio, 6.500 pesetas); 3) el coste del pinchador, 3.000 pesetas; 4) coste de las lancetas, calculándose por el número de tiras usadas, una por cada 4-6 determinaciones glucémicas; 5) el coste del tiempo de dedicación de la enfermera educadora, calculándose que un control glucémico más el tiempo de consulta, para modificar dosis, explicarlo, etc., necesita 10 minutos por término medio, y la educación diabética fueron 10 horas para grupos de 10 pacientes. El precio de la hora se obtiene dividiendo el sueldo de la enfermera (el salario bruto) entre 40 horas aproximadamente que dura la jornada laboral. No se consideró el tiempo médico del especialista debido a que no era diferente, a priori, el número de visitas entre ambos grupos aunque se registró la frecuencia.

Completaron el estudio 114 pacientes diabéticos tipo II mayores de 50 años. Inicialmente ambos grupos fueron más numerosos, perdiendo efectivos, sobre todo el grupo B; 12 personas por compra del reflectómetro durante el tiempo del estudio. Alguno de éstos se incluyó en el grupo A si ello ocurría al inicio del estudio. La edad media era de 66 ± 7 años, con una duración de la diabetes de 13 ± 8 años. Estaban siendo tratados 33 pacientes con diabéticos orales a dosis submáximas (sulfonilureas) (29,5%), 42 con anti-

TABLA I CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS GRUPOS A Y B (CON Y SIN REFLECTÓMETRO)

	Grupo A	Grupo B	p
Edad	65 ± 6	67 ± 7	0,06
Años de evolución	14 ± 8	11 ± 8	0,002
Control previo (HbA1c)	$7,9 \pm 1,3\%$	$7,7 \pm 1,3\%$	0,5
Glucemia media	150 ± 44 mg%	148 ± 33 mg%	0,6
Peso	70 ± 10	72 ± 13	0,7

biabéticos orales a dosis máximas (sulfonilureas más biguanidas) (37,5%) y 37 con insulina (33%). Los datos se procesaron con un programa estadístico Epi-Info 6.0, calculándose la media y la desviación estándar ($X \pm SD$). Se compararon los resultados para las variables cuantitativas por los tests no paramétricos de Kruskal-Wallis y para las variables cualitativas se utilizó el Chi-cuadrado, calculándose el OR con el intervalo de confianza del 95%, y el test de Mantel Haenzel si éstas se estratificaban.

RESULTADOS

El grupo A tratado con reflectómetro estaba compuesto por 54 personas, y por 60 el grupo B. Las características básicas de ambos grupos en cuanto a la edad, sexo, tiempo de evolución, control glucémico previo al estudio, están expuestos en la tabla I. La actividad profesional era diferente entre el grupo A y B, a pesar de intentar compensarlo. Los trabajadores en activo estaban más representados en el grupo A (12 de 13 pacientes) y las amas de casa en el grupo B (34 de 53 pacientes). Los sujetos jubilados y los trabajadores en paro se repartían por igual en ambos grupos.

Al cabo de un año de tratamiento

la HbA1c descendió en el grupo A de $7,9 \pm 1,3\%$ a $7 \pm 0,9\%$, mientras que en el grupo B pasó de $7,7 \pm 1,3\%$ a $7 \pm 1\%$, no existiendo diferencias entre ambos grupos al final del estudio ($p = 0,9$). Los pacientes del grupo A, con reflectómetro, consiguieron descender la HbA1c al cabo del año, una media de $0,87 \pm 1,3\%$ ($p = 0,001$) frente al $0,67 \pm 0,95\%$ del grupo B ($p = 0,05$). No hubo diferencias entre los descensos de HbA1c de los grupos A y B ($p = 0,6$). La glucemia emdia durante el año pasó en el grupo A de 150 ± 44 mg/dL a 126 ± 28 mg/dL ($p = 0,001$) frente al grupo B que de 148 ± 33 mg/dL pasó a 136 ± 32 mg/dL ($p = 0,06$), no habiendo diferencias entre ambos grupos al principio pero sí al final del estudi ($p = 0,044$).

El peso medio del grupo A pasó a ser de $70,6 \pm 10$ Kg ($p = 0,8$), al año, perdiendo de media $0,3 \pm 2,7$ Kg ($p = 0,29$), mientras que en el grupo B fue de $71,7 \pm 14$ Kg ($p = 0,8$), ganando de media $0,5 \pm 7-3$ Kg ($p = 0,17$).

Hubo 75 pacientes que realizaron cursillo de educación diabetológica fente a 39 que no quisieron realizarlo. Los usuarios del glucómetro fueron más proclives a realizarlo, 42 de 54 frente a 33 de 60 de los pacientes del grupo B (OR = 2,86; 1,1-7,13; $p = 0,010$). Los pacientes del grupo A que habían relaizado un cursillo de educa-

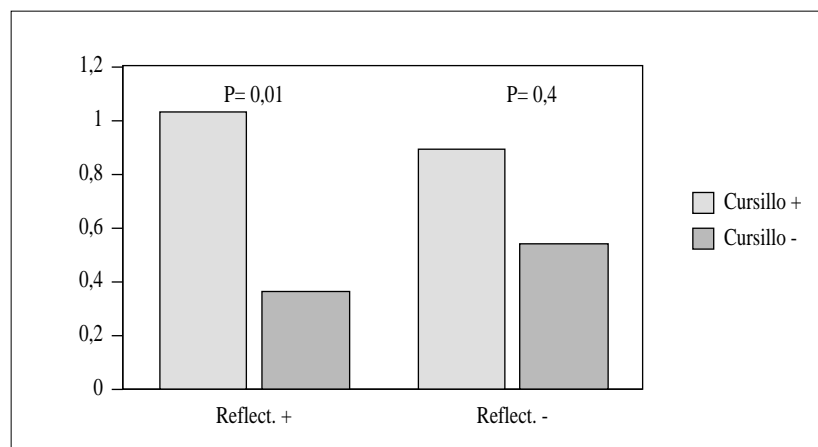


Figura 1. Disminución de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) al año de seguimiento en función de la posesión del reflectómetro (grupo A) o no (grupo B) y de la educación (Cursillo +: Pacientes que han recibido un curso de educación diabetológica. Cursillo -: Pacientes que no han recibido un curso de educación diabetológica. Reflect +: Pacientes con reflectómetro (Grupo A). Reflect -: Pacientes sin reflectómetro (Grupo B)).

TABLA II COSTE ECONÓMICO EN PESETAS POR PERSONA Y AÑO DE LOS DIFERENTES APARTADOS CONTEMPLADOS EN EL ESTUDIO

	Grupo A	Grupo B	p
Coste tiras	39.717 ± 27.507	2.053 ± 475	0,0001
Coste lancetas	2.960 ± 1.551	677 ± 237	0,001
Total material	52.232 ± 28.716	2.731 ± 675	0,0001
Educación	1.289 ± 646	866 ± 790	
Enseñanza reflectómetro	1.575	0	
Visitas enfermera	829 ± 1.282	3.585 ± 987	0,006
Coste total	55.906 ± 29.177	7.131 ± 2.013	0,0001

ción, tenían al cabo del año, un descenso mayor de la HbA1c que los que no lo habían efectuado; $1,02 \pm 1,38\%$ vs $0,33 \pm 0,77\%$ ($p = 0,01$). Esa diferencia no se encontraba en los pacientes del grupo B (Fig. 1).

No hubo diferencias en el porcentaje de pacientes que hacían ejercicio de forma rutinaria entre el grupo A y B, ni en el número medio de Km diarios que recorrían. El número de controles anuales realizados por el grupo A fue de 272 ± 188 , con un rango entre 25 y más de 600 controles anuales frente a 14 ± 3 del grupo B, con un rango entre 10 y 24 controles ($p = 0,0001$).

El número de visitas realizadas durante el año fuera de las programadas, a la enfermera educadora, para consultar diversos aspectos del control metabólico fue de 3 ± 4 en el grupo A y de $13,6 \pm 3,7$ en el grupo B; si bien las de este grupo eran así por la naturaleza del grupo ($p = 0,001$).

El número de visitas durante el año al especialista de Endocrinología para consultas fue de $2,9 \pm 0,9$ en el grupo A y de $2,6 \pm 0,9$ en el B ($p = 0,11$). Al médico de familia, el número de visitas por cuestiones de la diabetes, no contabilizándose ni visitas para prescripciones ni por otras causas, fue de

$1,3 \pm 1,4$ visitas/año en el grupo A y de $1,1 \pm 0,6$ en el B.

Costes

Coste de las tiras. Calculando el precio medio de un bote de 50 tiras reactivas de glucosa a 7.500 pesetas, cada determinación de glucosa cuesta 146 pesetas. Se calcula el precio medio de mercado de un aparato medidor de glucosa de última generación en 6.500 pesetas, para el grupo A.

El coste de la enseñanza para conocer el adecuado funcionamiento del reflectómetro medidor de glucosa, calculando una hora la empleada por la enfermera educadora, es de 1.575 pesetas, para el grupo A.

El coste de las visitas a la enfermera para controles y cambios de dosis tanto para el grupo A y, sobre todo, para el B, se calcula por 10 minutos de tiempo y un coste proporcional de 262 pesetas/visita.

A los pacientes que efectuaron el cursillo de educación diabetológica de 10 horas se les computó el coste del cursillo, calculando 10 horas de enfermera dividido por el número de personas asistentes al cursillo, aproximadamente 10, lo que hace una hora por persona, 1.575 pesetas. El coste de cada apartado del estudio se especifica en la tabla II. El total del coste anual ascendió a 55.906 ± 29.177 pesetas/año para el grupo A y de 7.131 ± 2.013 pesetas/año para el grupo B ($p = 0,0001$).

DISCUSIÓN

El autocontrol glucémico en pacien-

tes con diabetes tipo I o juvenil está aceptado como parte del tratamiento. Sirve para conocer de forma detallada los niveles glucémicos a lo largo del día y corregir los excesos con una más adecuada dosificación de insulina. Asimismo, permite la participación del paciente en el tratamiento y le hace sentirse más independiente⁽⁶⁾. Sin embargo, en los pacientes con diabetes tipo II del adulto, su utilidad es más discutible. La Asociación Americana de Diabetes recomienda el autochequeo glucémico sólo en los pacientes tipo II tratados con insulina y, aunque duda de su beneficio, también en todos los demás⁽⁷⁾.

La fiabilidad de las anotaciones de esos controles es, muchas veces, baja y se emplean otras mediciones más fiables (HbA1c, fructosamina) para la estimación del control glucémico. Gonder-Frederick⁽⁸⁾ halla que sólo un 23% de los sujetos anotaban correctamente sus resultados en la cartilla, al compararlos con una memoria oculta del reflectómetro; el 50% cometía errores leves (menos del 10% de errores) y un 30% con errores graves.

En nuestro estudio existe una mejoría de la HbA1c (disminución objetiva) en el grupo con reflectómetro, paralela a la disminución de la glucemia. Esto se ha conseguido en un grupo sin especial intervención, ni seguimiento, no han aumentado el número de visitas al médico ni al especialista. Es de resaltar el papel positivo de la educación ya que la suma de ambos consigue mejores resultados que sólo la medición glucémica sin más.

La misma mejoría se ha conseguido en el grupo B, sin reflectómetro, pero bajo la atención de la enfermera educadora, con un incremento en las

visitas. La caída de la HbA1c es similar a la del grupo autónomo (grupo A) si bien no hay tanto decremento en las glucemias. Esto podría achacarse a fallos en las anotaciones glucémicas, con una tendencia a disminuir los valores encontrados, ya descrito por Gonder-Frederick⁽⁸⁾.

Existen experiencias negativas sobre el efecto de la monitorización glucémica sobre el control glucémico en la diabetes tipo II. Así, Wing⁽⁹⁾ no encuentra mejoría del control glucémico, ni cambia la HbA1c, en el grupo de pacientes que practican el control glucémico respecto al grupo control. Fontbonne⁽¹⁰⁾ encuentra un pequeño descenso de la HbA1c, de 8,2% a 7,8% en el grupo que efectúa controles, pero esta caída es similar a su grupo control, de 8,2% a 7,7%. Ambos estudios tenían un esquema fijo para medir las glucemias, a determinadas horas. Tampoco Gallichan⁽¹¹⁾ encuentra diferencias en su estudio. Por el contrario, Rutten⁽¹²⁾ sí encuentra diferencias favorables al autocontrol respecto al grupo que no lo hace, con lo que desciende la HbA1c de 9,7% a 9,3% y con un esquema de análisis abierto, pudiendo hacerse cuantos controles quisieran. Sin embargo, en el grupo control, no existe un esquema de seguimiento y mejoría del tratamiento, por lo que el resultado puede estar alterado por este diferente comportamiento⁽¹³⁾.

En otros trabajos favorables al uso del reflectómetro, la atención prioritaria del equipo médico, la educación, etc., se volcó hacia uno de los grupos, pudiendo achacarse una influencia determinante⁽¹⁴⁾. En nuestro estudio, la HbA1c desciende de forma significativa de 7,9% a 7% en el grupo con

reflectómetro, pero de igual forma lo hace el grupo sin el medidor con la ayuda de la enfermera educadora, 7,7% a 7%, lo que contribuye decisivamente, quizá, a mejorar los resultados.

También, la educación diabetológica fue en principio ofrecida por igual a ambos grupos, si bien fue más aceptada por el grupo con aparato medidor de glucosa. Esto puede explicarse, por otra parte, porque el grupo vigilado por la educadora, al sentirse más cuidado, hace dejación de su control en ella y no demanda tanto la educación.

Hay que hacer constar la edad superior del grupo control y la diferente actividad profesional, predominio de amas de casa frente a trabajadores activos, en el grupo B que, aunque no llegue a ser significativa, podría dar lugar a diferentes valoraciones del estudio.

El coste es muy diferente según la opción escogida, 59.000 frente a 7.000 pesetas/año aproximadamente. El cálculo puede modificarse ligeramente si el reflectómetro se amortiza en 1, 2 ó 3 años, debiendo restarse 3.250 ó 4.000 pesetas a la segunda y tercera opciones. El problema de la extensión generalizada del uso del reflectómetro es su elevado mantenimiento en cuanto a las tiras reactivas.

La otra opción, el seguimiento por la enfermera especializada, tiene un coste más adecuado, si bien necesitaría de personal altamente cualificado, ya que su capacitación tiene que ser excelente y la medida del éxito se basa en su acierto y experiencia. La efectividad de esta modalidad de tratamiento está limitada a este factor humano. Puede ser una alternativa definitiva para grupos de personas mayores, gran parte de los participantes de este estudio.

En conclusión, la vigilancia periódica a cargo de la enfermera educadora puede ser un método adecuado para colectivos de enfermos diabéticos mayores mantengan la diabetes bajo un control aceptable con un coste muy inferior al tradicional, uso individual con reflectómetro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Joslin EP. *A Diabetic Manual*. 2nd ed. New York: Lea and Febiger, 1919.
2. Assal JP, Muhlhäuser I, Pernet A, Gfeller R, Jorgens V, Berger M. Patient education as the basis for diabetes care in clinical practice. *Diabetologia* 1985; **28**: 602-613.
3. Miller LV, Goldstein J, Nicolaisen G. Evaluation of patient knowledge of patient self care. *Diabetes Care* 1978; **1**: 275-280.
4. Mazzuca SA, Moorman NH, Wheeler ML, Norton JA, Fineberg NS y cols. The diabetes education study: a controlled trial of the effects of diabetes patient education. *Diabetes Care* 1986; **9**: 1-10.
5. Alonso Y, Goicolea I, García Y, Vázquez JA. Control metabólico y educación diabetológica: Resultados y limitaciones en una población de diabéticos tipo II. *Av Diabetol* 1995; **11**:29-34.
6. Tattersall R. Self monitoring of blood glucose concentrations by non-insulin-dependent diabetes patients. *BMJ* 1992; **205**: 1171-1172.
7. American Diabetes Association. Self monitoring of blood glucose (Consensus Statement). *Diabetes Care* 1997; **19** (Suppl 1): S62-66.
8. Gonder-Frederick L, Julian D, Cox D. Self measurements of blood glucose: Accuracy of self reported data and adherence to recommended regimen. *Diabetes Care* 1988; **11**: 579-585.
9. Wing RR, Epstein LH, Nowalk MP, Scott N, Koeske R y cols. Does self monitoring of blood glucose levels improve dietary compliance for obese patients with type II diabetes. *Am J Med* 1986; **81**: 830-836.
10. Fontbonne A, Billault B, Acosta M, Percheron C, Varenne P y cols. Is glucose self monitoring beneficial in non-insulin treated patients? Results of a randomized comparative study. *Diabetes Metab* 1989; **15**: 255-260.
11. Gallichan MJ. Self monitoring by patients receiving oral hypoglycemic agents: a survey and comparative trial. *Practical Diabetes* 1994; **11**: 28-30.
12. Rutten G, Van Eijk J, De Nobel E, Beek M, Van der Velden H. Feasibility and effects of a diabetes type II protocol with blood glucose self-monitoring in general practice. *Fam Pract* 1990; **7**: 273-278.
13. Faas A, Schellevis FG, Van Eijk JTM. The efficacy of self monitoring of blood glucose in NIDDM subjects. A criteria based literature review. *Diabetes Care* 1997; **20**: 1482-1486.
14. Cohen M, Zimmet P. Self monitoring of blood glucose levels in non insulin dependent diabetes mellitus. *Med J Aust* 1983; **2**: 377-380.

ÍNDICE DE AUTORES

- Aguilar Diosdado M, 91
 Albero R, 29
 Alonso Y, 159
 Alvarez Gómez S, 11, 17, 138
 Andía V, 74
 Araújo-Vilar D, 21, 41
 Arranz Martín A, 138
 Barbancho F, 99
 Bayo J, 36
 Benito P, 29
 Bonet B, 110
 Brazales A, 105
 Cabezas-Cerrato J, 21, 41, 64
 Cabrera Galván JJ, 127
 Cacho L, 29
 Calle C, 1
 Campillo JE, 99
 Campión J, 1
 Campos VJ, 105
 Caro E, 86
 Collado Mesa F, 51
 Corominola H, 67
 Cuéllar LA, 74
 Dávila N, 1
 Díaz Díaz O, 51
 Díaz M, 120
 Elorza V, 36
 Enciso F, 120
 Ergueta Martín P, 116
 Escobar Jiménez L, 91
 Esmatjes E, 29, 67
 Fajardo c, 105
 Fernández-Cruz L, 67
 Fernández Martínez P, 116
 Francisco Gallego JC, 64
 Francisco Merino J, 105
 García Blanco A, 74
 García-Estévez DA, 41
 García López JM, 67
 García Y, 159
 Gil ML, 133
 Goday Arno A, 126
 Goicolea I, 29, 36, 57, 149, 159
 Gomis R, 67
 González Rodríguez P, 51
 González Sarmiento, 116
 Grupo de la Soc. End. Nutr. y Diab. 80
 Hernández Cuesta I, 51
 Herrera E, 110
 Herrera-Justiniano E, 120
 Hinojosa Mena-Bernal MC, 116
 Hockaday TDR, 21
 Izaguirre Espinoza, H, 127
 Izusquiza A, 149
 Jara Albarrán A, 11, 17, 138
 Kirk M, 21
 Kolesár P, 49
 Lado Abeal J, 64
 López-Guzmán A, 74
 López R, 144
 Lluch I, 133
 Maestro B, 1
 Martínez I, 99
 Martínez P, 133
 Martínez Valenzuela B, 11, 17, 138
 Martín T, 120
 Martín-Scapa MC, 17, 138
 Méndola JF, 67
 Mojito V, 49
 Morell M, 86
 Muñoz M, 105
 Nieto JF, 74
 Ortiz C, 86
 Osifo E, 21
 Otero P, 110
 Pablos PL de, 29
 Pérez A, 105
 Pesquera C, 29
 Piera B, 74
 Piñón F, 105
 Río Valtierra R del, 11, 17, 138
 Roche MJ, 29
 Rodríguez Erdozain MR, 29
 Rojano JC, 86
 Saavedra Santana P, 127
 Sáenz A, 67
 Sánchez JJ, 86
 San Miguel A, 144
 Sebastián Luque J, 86
 Serrano I, 120
 Soc. Esp. Diabetes, 92
 Soc. Esp. Endocrinología, 92
 Soc. Esp. Medicina Familiar y Comunitaria, 92
 Soc. Esp. Nefrología, 92
 Soto Montenegro ML, 11, 17, 138
 Taboada C, 144
 Tagle Luzárraga M, 154
 Tébar J, 133
 Tormo MA, 99
 Torres A, 120
 Ugarte Abásolo E, 57
 Vázquez JA, 36, 57, 149, 159
 Vicente MA, 57, 149
 Vilar Bonet A, 116
 Villar García G, 57, 159
 Vozár J, 49
 Zurro Hernández J, 116

ÍNDICE DE MATERIAS

- Acarbosa, 116
 Adolescentes, 110
 Aislamiento, 138
 Aloinjerto, 67
 Alotrasplante, 11
 Aminoguanidina, 67
 Antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad de clase I y II, 67
 Apo 1-B, 154
 Arterioesclerosis, 110
 Autoanálisis de glucosa en sangre, 133
 Autocontrol glucémico, 159
 Automonitorización de glucosa en sangre, 133
 Calcio, 144
 Cetoacidosis severa, 51
 Colesterol sérico, 105
 Colonia de educación, 74
 Complicaciones de la diabetes, 80
 Consumo de glucosa mediado por insulina, 41
 Consumo de glucosa no mediado por insulina, 41
 Control de calidad, 36, 57, 64
 Control metabólico, 57
 Crecimiento dental, 127
 Cultivo 138
 Diabetes experimental, 127
 Diabetes mellitus, 57, 64, 99, 105, 133
 Diabetes mellitus dependiente a la insulina, 74
 Diabetes mellitus insulino-dependiente, 51, 110
 Diabetes mellitus no insulino-dependiente, 159
 Diabetes mellitus tipo II, 21, 29, 36, 116
 Diarrea, 116
 Disfunción eréctil, 80
 DMNID, 41, 120, 154
 Educación diabetológica, 74, 159
 Eficacia de la glucosa, 21
 Ejercicio físico, 21
 Electromiograma, 149
 Encapsulación, 11
 Epidemiología, 80
 Epidemiología descriptiva, 51
 España, 29
 Factores de riesgo, 36, 57
 Familiares, 21
 Familiares de diabéticos, 41
 Fibra soluble, 99
 Flatulencia, 116
 Fracaso a antidiabéticos orales, 120
 Furosemina, 144
 Gelfoam-agarosa, 17
 Gen del receptor de insulina, 1
 Glucemia capilar, 64
 Glucosa, 144
 Gluco Touch, 133
 Hipertensión, 154
 Hemoglobina glicosilada, 105, 159
 Hormonas esteroideas, 1
 Índice cintura/cadera, 86
 Índice de masa corporal, 105
 Inhibidores de la amilasa, 99
 Inmunofluorescencia indirecta, 67
 Insulina ultralenta nocturna, 120
 Insulino-secreción, 17
 Islotes de Langerhans, 11
 Islotes pancreáticos, 17, 67, 138
 Legumbres, 99
 Lípidos, 144
 Macrocapsula, 17
 Medidores de glucosa en sangre, 133
 Microalbuminuria, 154
 Microcapsula, 11
 Moléculas de adhesión, 67
 Nefropatía, 29, 92
 Neuropatía diabética, 149
 Obesidad, 41
 Obesidad central, 86
 Oxido nítrico, 67
 Pautas de detección, 92
 Prevalencia, 29
 Pureza, 138
 Rata, 17
 Rechazo, 67
 Reflectómetro, 64
 Regulación transcripcional, 1
 Retinopatía diabética, 36
 Revisiones, 49
 Riesgo cardiovascular, 86
 Secreción de insulina, 21
 Sensibilidad a la insulina, 21
 Sensibilidad vibratoria, 149
 Síndrome de Conn, 1
 Síndrome de Cushing, 1
 Síndrome plurimetabólico, 86
 Sintetasa del óxido nítrico, 67
 Terapia combinada, 120
 Tiras reactivas, 64
 Tolerancia, 116
 Tolerancia intravenosa a la glucosa, 41
 Tratamiento con insulina, 105
 Triglicéridos séricos, 105
 Vena porta, 67
 Vitaminas A y E, 110
 Xenotrasplante, 11