

S U M A R I O



ORIGINALES

Can we replace ICA? Risk assessment by using fluid phase multi-antibody analysis in a prediabetic Spanish cohort

J. Morales, M. Puig-Domingo, V. Lampasona, R. Corcoy, T. Dyrberg, D. Mauricio, E. Bonifacio, A. de Leiva (pág. 91)

QTc interval and diabetic autonomic neuropathy

E. Rodrigues, J.L. Medine, P. Freitas, A. Barbosa, C. Neves, J. Polónica, M. Cerqueira-Gomes (pág. 99)

Prevalencia de afectación renal en la población con diabetes mellitus tipo 2 (no dependiente de insulina) en la Comunidad Autónoma de Madrid

B. Zorrilla, J. Cantero, R. Bueno, J. Barazgoitia, L. Calle Pascual, Grupo Colaborativo de la Comunidad Autónoma de Madrid para el Estudio de la Nefropatía en la Diabetes (pág. 103)

Complicaciones vasculares en la diabetes mellitus tipo 1: Estudio de prevalencia e incidencia en un área sanitaria

G. Villar, Y. García, A. Izuzquiza, I. Goicolea, J.A. Vázquez (pág. 113)

Factores asociados a la aparición de retinopatía diabética: Efectos del control metabólico

G. Villar, Y. García, I. Goicolea, J.A. Vázquez (pág. 119)

In vivo and in vitro study of the absorption and intestinal metabolism of carbohydrates in a model of type 2 diabetic rats

M.A. Tormo, F. Ropero, M. Nieto, I. Martínez, J.E. Campillo (pág. 125)

Avances en Diabetología

ÓRGANO DE EXPRESIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Vol. 14 Núm. 3

Julio-Septiembre 1998

EDITOR JEFE

José Enrique Campillo Álvarez, 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

Presidente Electo

Bernat Soria, Alicante

Vicepresidente 1º

Ricardo V. García-Mayor, Vigo

Vicepresidente 2º

Juan Francisco Ascaso, Valencia

Secretaria

Pilar Manzano, Madrid

Vicesecretario

Ricardo Chamorro, Ciudad Real

Tesorero

Dídac Mauricio, Badalona

Bibliotecario

Albert Goday, Barcelona

Vocales

Francisco Javier Novoa, Las Palmas

Luis Castaño, Bilbao

Teresa Iglesias, La Coruña

Juan José Barbería, Pamplona

Internet: <http://www.nhcg.es/sed>

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.

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 indicársele 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 lo descrito 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.

ILUSTRATIONS

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.

REFEREING 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. 14 Núm. 3

Julio-Septiembre 1998

SUMARIO

ORIGINALES

- Can we replace ICA? Risk assessment by using fluid phase multi-antibody analysis in a prediabetic Spanish cohort
J. Morales, M. Puig-Domingo, V. Lampasona, R. Corcoy, T. Dyrberg, D. Mauricio, E. Bonifacio, A. de Leiva 91
- QTc interval and diabetic autonomic neuropathy
E. Rodrigues, J.L. Medine, P. Freitas, A. Barbosa, C. Neves, J. Polónica, M. Cerqueira-Gomes 99
- Prevalencia de afectación renal en la población con diabetes mellitus tipo 2 (no dependiente de insulina) en la Comunidad Autónoma de Madrid
B. Zorrilla, J. Cantero, R. Bueno, J. Barazgoitia, L. Calle Pascual, Grupo Colaborativo de la Comunidad Autónoma de Madrid para el Estudio de la Nefropatía en la Diabetes 103
- Complicaciones vasculares en la diabetes mellitus tipo 1: Estudio de prevalencia e incidencia en un área sanitaria
G. Villar, Y. García, A. Izuzquiza, I. Goicolea, J.A. Vázquez 113
- Factores asociados a la aparición de retinopatía diabética: Efectos del control metabólico
G. Villar, Y. García, I. Goicolea, J.A. Vázquez 119
- In vivo* and *in vitro* study of the absorption and intestinal metabolism of carbohydrates in a model of type 2 diabetic rats
M.A. Tormo, F. Roperio, M. Nieto, I. Martínez, J.E. Campillo 125

Can we replace ICA? Risk assessment by using fluid phase multi-antibody analysis in a prediabetic Spanish cohort

J. Morales, M. Puig-Domingo, V. Lampasona, R. Corcoy, T. Dyrberg, D. Mauricio, E. Bonifacio, A. de Leiva

The Department of Endocrinology, Hospital de Sant Pau. Barcelona, Spain.

The Department of Medicine, Instituto Scientifico San Raffaele. Milan, Italy.

The Department of Population Health Sciences, National Institute of Public Health. Oslo, Norway.

The Department of Diabetes Immunology, Novo-Nordisk. Bagsvaerd, Denmark.

The Department of Endocrinology, Consorci Hospitalari Parc Taulí. Sabadell, Spain.

Correspondence to: Professor A. de Leiva, Department of Endocrinology, Hospital Sant Pau, Sant Antoni Maria Claret 167, 08025 Barcelona

RESUMEN: *Objetivo.* Investigar el riesgo conferido por la positividad de diferentes autoanticuerpos insulares en familiares de primer grado (FPG) de pacientes diabéticos tipo 1.

Diseño y métodos. Estudiamos 160 FPG ICA negativos, 40 FPG ICA positivos, 10 de los cuales desarrollaron diabetes tipo 1 (DMI) durante el seguimiento, 43 sujetos DMI ICA positivos y 43 diabéticos ICA negativos; los sujetos DMI fueron estudiados al debut clínico de la enfermedad. Se determinaron ICA, anti-IA2, anti-GAD y anti-insulina (IAA) en los ICA positivos se determinó el patrón de tinción.

Resultados. El riesgo de desarrollo de DMI fue superior en aquellos FPG que presentaron ICA > 20 JDF, desarrollando la enfermedad el 25% de los mismos en un período de seguimiento de 3,6 años. Se observó un predominio del patrón de ICA no restrictivo (NR) en todos los grupos estudiados. Se observó, asimismo una elevada frecuencia de anti-IA2 en los sujetos ICA-NR positivos. El 50% de los FPG con IAA positivos desarrollaron DMI a los 3,5 años de seguimiento, presentando un riesgo 10,6 veces superior a los FPG IAA negativos.

La prevalencia de anti-GAD fue del 65% entre los DMI ICA positivos, del 30% en los prediabéticos (aquellos FPG que desarrollaron DMI durante el seguimiento), 20% en los FPG ICA positivos, 23% en los DMI ICA negativos y 7% en los FPG ICA negativos. El 25% de los FPG anti-GAD positivo desarrollaron DMI a los 6,4 años de seguimiento, con un riesgo de desarrollo de la enfermedad 5,7 veces superior al grupo de FPG negativo para dicho marcador. Sólo se halló positividad para anti-IA2 entre los sujetos ICA+ (67% de los DMI, 80% de los FPG prediabéticos y 17% de los FPG); el período de supervivencia libre de desarrollo de DMI para los FPG con anti-IA2 positivo fue de 6,3 años y el riesgo de desarrollo de la enfermedad fue 44 veces superior para dichos individuos que en los anti-IA2 negativos. La presencia de multipositividad incrementó el riesgo de desarrollo de DMI, siendo 18,6 veces superior para aquellos sujetos positivos para 4 anticuerpos en comparación con aquellos que sólo presentaron positividad para un anticuerpo.

Conclusiones. Aunque la determinación de ICA continúa siendo una técnica de elevada sensibilidad como prueba de cribaje, su capacidad predictiva de desarrollo de diabetes es limitada. Actualmente la información obtenida mediante el análisis de múltiples anticuerpos, fundamentalmente anti-GAD y anti-IA2 puede desplazar y reemplazar a los ICA en el pronóstico del estadio de prediabetes tipo 1.

PALABRAS CLAVE: Diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID); Familiares de primer grado (FPG); Autoanticuerpos anti-islole (ICA); Anticuerpos antidescarboxilasa del ácido glutámico (GAD65ab); Tirosina fosfatasa (IA2); Anticuerpos anti-IA2 (IA2ab); Anticuerpos anti-insulina (IAA).

ABSTRACT: *Objective.* To investigate the risk conferred by the presence of different islet cell auto-antibodies in individuals at risk for type I diabetes, i.e. first degree relatives of type I diabetic patients.

Research design and methods. We studied ICA, IA2ab, GAD65ab, IAA, and ICA pattern in those ICA positive subjects in: 160 ICA negative first degree relatives, 40 ICA positive first degree relatives including 10 who developed IDDM at follow up, 43 new onset IDDM patients with ICA and 43 new onset IDDM patients without ICA.

Results. The risk of IDDM development was higher between FDR with ICA > 20 JDF U, than in FDR with ICA titres below 20 JDF U ($p < 0.0001$; 75% vs. 93% survival after 3.6 years follow up). Fifty percent of FDR with IAA developed IDDM in 3.5 years and had a risk of IDDM development 10.6 times greater than FDR negative for IAA ($p = 0.001$). Prevalence of GAD65ab was 65% in ICA+ IDDM patients, 50% in prediabetic relatives (those who developed the disease at follow-up), 20% in the ICA+ FDR, 23% in ICA- IDDM patients and 7% in ICA- FDR. Twenty five percent of the GAD65ab+ FDR developed IDDM at 6.4 years follow-up and the risk of becoming diabetic was 5.7 times greater among them than in FDR negative for this marker ($p = 0.0039$). IA2ab were only present in ICA+ groups (67% in IDDM patients, 80% in prediabetic relatives and 17% in FDR). The medium survival for FDR with IA2ab was 6.3 years and the risk of IDDM development was 44 times higher among them than for FDR without IA2ab ($p < 0.00001$). Multiple antibodies increased the risk of IDDM development, being the risk for FDR with 4 antibodies 18.6 times greater than in those with only one positive antibody ($p < 0.00001$).

Conclusion. Currently, the information supplied by the analysis of multiple islet antibodies, mostly GAD65ab and IA2ab, provides significant advice about the prediabetic stage and therefore may be the first step in prediabetes screening in large population studies while determination of ICA may be additional in the study and prognosis of prediabetes.

KEY WORDS: IDDM: Insulin-dependent diabetes mellitus; FDR: First degree relatives; ICA: Islet cell antibodies; GAD65ab: Glutamic acid decarboxylase antibodies; IA2ab: IA2 antibodies; IAA: Insulin autoantibodies.

INTRODUCTION

Islet cell antibodies (ICA) are detected in more than 80% of patients with insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) at and prior to clinical diagnosis, and their detection in first degree relatives of IDDM patients is associated with an increased risk for development of disease^(1,2). Risk is related to both ICA titre and pattern^(3,4) and to the number of autoantibodies to specific islet autoantigens which are detected⁽⁵⁻¹¹⁾. The identification of these autoantigens and the subsequent development of simple fluid phase assays for the detection of islet autoantibodies has improved our ability to predict which individuals will develop disease⁽¹²⁻¹⁷⁾. In order to determine effective screening strategies for IDDM prediction in IDDM families in Spain, we have measured antibodies to the IDDM associated autoantigens GAD65, IA-2 and insulin and classified ICA as restricted (R-ICA) or non-restricted (NR-ICA) in cohorts of first degree relatives and in new onset IDDM patients.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Serum samples collected from 40 FDR previously identified as having ICA, and a further 160 without ICA, all participating in an on-going family study in the Hospital de Sant Pau, Barcelona were included in the study. The percentage of FDR with ICA in our cohort is 6%⁽¹⁸⁾. Ten of the 40 FDR with ICA developed IDDM. Their median age at sample collection was 26 years (range 11 to 54 years) and time to diagnosis was 2 years (range 2

months to 7 years), 8 were male. The median age of the remaining 30 FDR with ICA was 27 years (range 11 to 59 years), and their median follow-up was 5 years (range 1 to 9 years); 15 were male. For antibody measurements the first serum sample found to have ICA was used. The FDR without ICA had a median age of 26 years (range 1 to 69 years) and a median follow-up of 3 years (range 2 to 4 years).

Serum samples from IDDM patients at onset of disease were also included in the study. We measured antibodies in 43 patients with ICA (median age 24 years; range 10 to 65 years; 33 males) and 43 patients without ICA (median age 28 years; range 11 to 82 years; 28 males). All patients were diagnosed in Hospital de Sant Pau and all were treated with insulin at the time of diagnosis and remained under this treatment thereafter. The percentage of IDDM patients with ICA at onset of disease in our cohort is 83%⁽¹⁸⁾. Samples from 203 subjects (median age 28 years; range 15 to 50 years; 110 male) without a family history of diabetes were used as the control cohort for autoantibody measurements.

Detection of ICA

Conventional ICA were detected by indirect immunofluorescence technique with prolonged incubation of 18 h at 4°C⁽¹⁹⁾ in the presence of 400 IU/ml aprotinin (Aprotinin Novo, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) using gelatine coated slides with human pancreas sections. For the staining we used a fluorescein isothiocyanate goat anti-human IgG (1:64) from Kallestad (Aus-

tin, Tx, USA). Samples of sera were serially diluted in PBS (pH 7.4). Three positive controls (5, 10, 20 JDF units) and one negative control were included in each experiment. Titres equal or above 5 JDF unit were considered positive. ICA positivity in our control population was of 1 out of 203 subjects (0.5%). The technique had a specificity of 100% and sensitivity of 100%, in the 8th ICA Proficiency Program of the Immunology and Diabetes Workshops (IDW).

For the study of the ICA pattern we measured ICA as above on pancreas from Balb/c mice. Serum samples in which ICA was only detected on human pancreas was characterised as having R-ICA, and those in which ICA was detected on both human and mouse pancreas were characterised as having NR-ICA. For standardisation of the ICA on mouse pancreas we used the 80 JDF unit standard supplied in the Immunology and Diabetes Workshops (IDW). This sample remained detectable on the mouse pancreas at 5 JDF units.

IAA assay

We used a fluid phase radiobinding assay, with prolonged incubation of one week⁽²⁰⁾ to increase the sensitivity. One hundred and fifty µl of each serum sample was first incubated in duplicate tubes containing 50 µl of cold insulin at a concentration of 9. 10⁶ nU of human insulin per milliliter of PBS (pH 7.5), or duplicate tubes containing 50 µl of PBS alone for 1 h at 4°C. ¹²⁵I-insulin (7.500 nU/ml; Amersham, UK) was subsequently added and tubes incuba-

ted for 7 days at 4°C. The immuno-complexes were precipitated after a first wash with 14.3% polyethylenglycol (PEG) and a second wash with 11% PEG. Pellets and supernatants were counted for 2 min in a gammacounter (Packard Multi-Prias 1, Packard Instrument Company, Ill., USA). Positive and negative standard sera were included in each assay. Results are expressed in nU/ml and sera values above the mean + 3SD (75 nU/ml) of the control population were regarded as positive. The frequency of IAA in our control population is 0.5%. Quality control was assessed by participation in the IAA proficiency programmes of the Immunology and Diabetes Workshops⁽²¹⁾, reaching 100% specificity and 82% sensitivity in the 5th IAA Proficiency Program from the IDW.

GAD and IA2 autoantibody assays

Radiolabelled recombinant proteins were obtained from *in vitro* transcription of 1 µg of recombinant pB1182 plasmid by T7 RNA polymerase for the GAD65 and the recombinant IA-2ic SP64 Poly A plasmid by SP6 RNA polymerase for the IA2 (Riboprobe Gemini 11 Core System, Promega Corporation). The translation procedure was carried out using 4 µg of each transcribed RNA mixture, (equivalent to 2 µg RNA approximately) in a methionine-free rabbit reticulocyte lysate (Rabbit Reticulocyte Lysate, Promega Corp., Boehringer Ingelheim, Madrid, Spain) and in the presence of [³⁵S]methionine (0.8 mCi/ml, Amersham, Madrid, Spain). Unincorporated [³⁵S]methionine was removed by gel

TABLE I FREQUENCY OF NON-RESTRICTIVE (NR-ICA) AND RESTRICTIVE (R-ICA) PATTERN AND DISTRIBUTION OF ICA TITRES ≤ 20 JDF U AND > 20 JDF U, IN RELATION TO THE ICA PATTERN

ICA+ groups	ICA pattern	
	NR-ICA	R-ICA
n.o. IDDM, n = 43	33 (78%)	10 (22%)
ICA ≤ 20 JDF U	11 (33%)	9 (90%)
> 20 JDF U	22 (67%)	1 (10%)
Pre-IDDM, n = 10	10 (100%)	0 (0%)
ICA ≤ 20 JDF U	4 (40%)	-
> 20 JDF U	6 (60%)	-
FDR, n = 30	25 (83%)	5 (17%)
ICA ≤ 20 JDF U	17 (68%)	4 (80%)
> 20 JDF U	8 (32%)	1 (20%)

ICA ≤ 20 JDF U were predominant among subjects with the R-ICA pattern. n.o. IDDM are patients at onset of IDDM; Pre-IDDM are prediabetic relatives; FDR are non-diabetics relatives.

chromatography on a NAP 5 column (Pharmacia, Barcelona, Spain). A total of 30,000 cpm of labeled GAD65 and 15,000 cpm of IA2 proteins were diluted with 2 µl serum samples (dilution 1:25) in a final volume of 50 µl Tris-buffered saline with Tween (TBST), in 96-well microtiter plates and incubated overnight at 4°C. Isolation of the immunocomplexes was done by adding 7.5 µg protein A-Sepharose (Pharmacia, Barcelona, Spain) in 50 µl of TBST, to each well followed by incubation for 1 h at 4°C with shaking. The content was transferred to 96-well filtration plates (MAHA N45, Millipore, Barcelona, Spain) with a PVDF filter at the bottom of the wells. The plate was placed on a vacuum device allowing rapid washing of the immunocomplexes by filtration, and after 6 washings with 165 µl TBST, the bottom of each well in the filtration units was punched out into an eight-unit tube holder (Multi-screen System, Millipore, Barcelona, Spain). Each tube is

filled with 2.5 ml scintillation liquid and counted for 0.5 min in the beta-counter (Packard Tri-Carb 1500, Packard Instrument Company, Ill., USA). All samples including negative and positive standard sera were tested in duplicate wells.

Values for GAD65ab and IA2ab were reported as index values using the formula:

$$\frac{(\text{mean cpm unknown sample}) - (\text{mean cpm negative control})}{$$

$$(\text{mean cpm positive control}) - (\text{mean cpm negative control})$$

Serum samples with GAD65ab or IA2ab index values above the mean + 3SD of the control population were considered positive. GAD65ab and IA2ab were found in 0% of subjects of the control population. In the 3rd GAD65ab Proficiency Program (test #3) from the IDW our assay reached a specificity of 100% and a sensitivity of 77%.

TABLE II FREQUENCIES FOR EACH ANTIBODY, FOR DIFFERENT COMBINATIONS OF TWO ANTIBODIES AND FOR THE PRESENCE OR ABSENCE OF IA2AB, GAD65AB AND IAA

	n.o. IDDM	ICA ⁺ groups		ICA ⁻ groups		
		Pre-IDDM	FDR	n.o. IDDM	FDR	Controls
ICA ≥ 20 JDF U	29 (67%)	9 (90%)	17 (57%)	-	-	-
IA2ab	29 (67%)	8 (80%)	5 (17%) ^a	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GAD65ab	28 (65%)	5 (50%)	6 (20%) ^a	10 (23%)	11 (7%)	0 (0%)
IAA	9 (21%)	3 (30%)	2 (7%)	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
IA2ab and/or GAD65ab	37 (86%)	8 (80%)	10 (33%) ^a	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
IA2ab and/or IAA	30 (70%)	6 (60%)	6 (20%) ^a	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
GAD65ab and/or IAA	30 (70%)	6 (60%)	8 (27%) ^a	11 (25%)	0 (0%)	0 (0%)
IA2ab and GAD65ab and IAA	6 (14%)	2 (20%)	0 (0%) ^a	0 (0%) ^b	0 (0%) ^b	0 (0%) ^b
All three negatives	5 (12%)	2 (20%)	19 (63%) ^a	32 (74%) ^c	149 (93%) ^c	100 (100%) ^c

^a*p* < 0.05 versus ICA+ n.o. IDDM; ^b*p* < 0.0001 versus ICA+ n.o. IDDM and Pre-IDDM. n.o. IDDM are patients at onset of IDDM; Pre-IDDM are prediabetic relatives; FDR are non-diabetic relatives.

Statistical analysis

Fisher's exact test was used to compare differences in frequencies among the study groups. Spearman's rank correlation test was applied to compare the degree of correlation between antibodies levels. Sensitivity (true positives ÷ [true positives + false negative] x 100), was calculated for each autoantibody and different combinations of them. For the survival analysis of the autoantibodies we used the Kaplan-Meier test to compare differences between groups and the Cox-proportional Hazards Model to calculate the risk conferred by each marker expressed as the coefficient risk. P values below 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

ICA

ICA titres were > 20 JDF U in 53% of ICA⁺ 110 DM patients, in 60% of ICA+ prediabetic relatives and in 30%

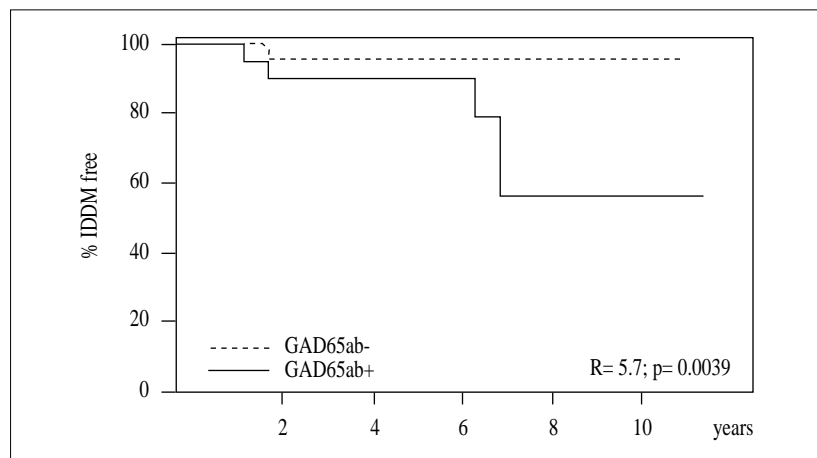


Figure 1. Survival table for GAD65ab in FDR (*p* = 0.039, GAD65ab⁺ FDR versus GAD65ab⁻ FDR. The risk conferred by GAD65ab was 5.7).

of ICA+ non-diabetic FDR. Sensitivity for ICA titres > 20 JDF U was of 60%. The NR-ICA was prevalent in all study groups (Table I). The prevalence of R-ICA and NR-ICA pattern and their distribution among subjects with ICA titres ≤ 20 JDF U and > 20 DF U are shown in table I. We found that most subjects with R-ICA pattern had titres ≤ 20 JDF U (*p* = 0.01). The survival analysis for the ICA titre demonstrated differences

between FDR with ICA titres >20 JDF U and those with ≤ 20 JDF U. To calculate the risk conferred by the ICA titre we had to transform ICA levels into decimal logarithm to obtain a normal distribution. The analysis showed that the risk increases 2.4 times per each unit of the logarithm of the ICA level. The survival analysis for the ICA pattern did not show differences between FDR with a particular ICA pattern.

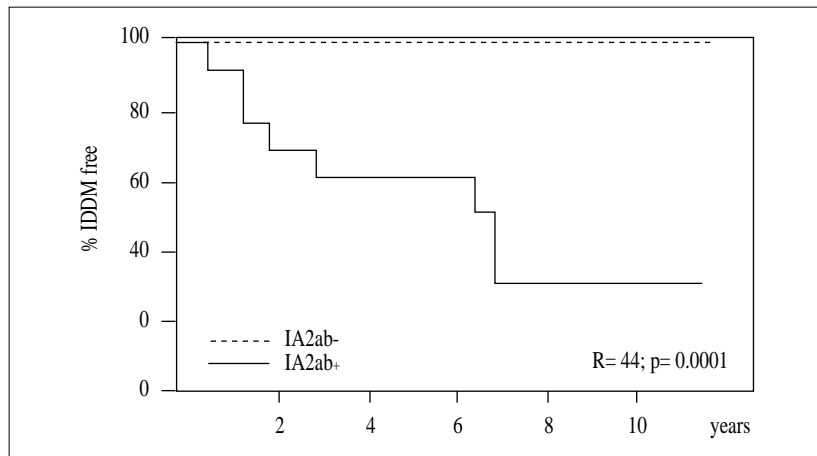


Figure 2. Survival table for IA2ab in FDR ($p < 0.0001$, IA2ab⁺ FDR versus IA2ab⁻ FDR. The risk conferred by IA2ab was 44).

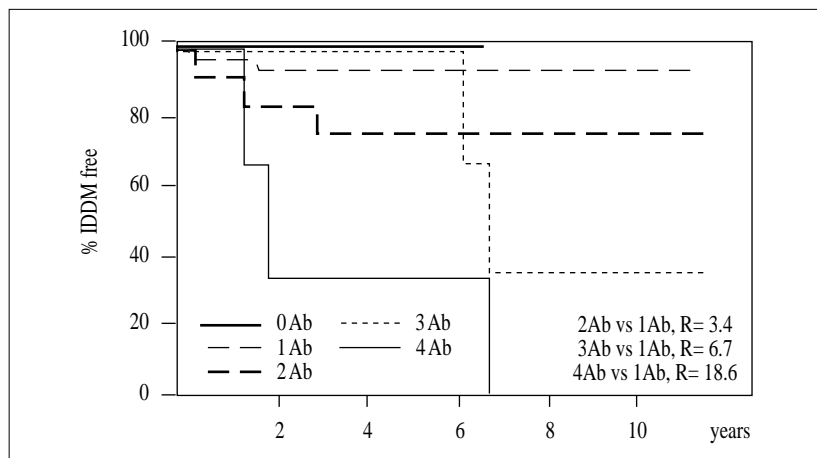


Figure 3. Survival table for autoantibody multi-positivity in FDR ($p < 0.0007$, between subjects with none or one antibody versus subjects with two, three or four antibodies. With an R is expressed the risk conferred in each case by the addition of one antibody).

IAA

IAA was more prevalent in ICA⁺ FDR and patients than in ICA⁻ FDR and patients (Table II). Only 3 (30%) of 10 prediabetic relatives had IAA. Risk in FDR with IAA was 10.6 times greater than in FDR without IAA ($p < 0.0001$, IAA⁺ FDR vs. IAA⁻ FDR), with a medium survival of at 3.5 years follow-up.

GAD65ab

We found differences between ICA⁺ IDDM patients versus ICA⁺ FDR and all ICA⁻ groups, and between ICA⁺ prediabetic relatives versus ICA⁻ FDR and controls. GAD65ab sensitivity was only 50% (Table II). The survival analysis for GAD65ab showed differences between FDR positive and negative for this marker (Fig. 1), with

a 75% survival at 6.4 years and a risk of IDDM progression 5.7 times greater for GAD65ab⁺ FDR than for GAD65ab⁻ FDR ($p < 0.0039$).

IA2ab

These autoantibodies were only found among ICA⁺ subjects (Table II). The highest prevalence corresponded to the ICA⁺ prediabetic relatives (80%). The survival analysis showed differences between IA2ab⁺ EDR and IA2ab⁻ FDR (Fig. 2). IA2ab⁺ FDR had a medium survival at 6.3 years follow-up and a risk of IDDM development 44 times greater than IA2ab⁻ FDR ($p < 0.0001$). As for GAD65ab, a greater prevalence of IA2ab among subjects with ICA titres ≥ 80 JDF U was detected, 76% (16/21) with ICA ≥ 80 JDF U versus 42% (26/62) with ICA < 80 JDF U ($p < 0.0006$). A higher prevalence of subjects with the NR-ICA pattern among IA2ab positive individuals was also observed, 54% (37/68) with the NR-ICA versus 26% (4/15) with the R-ICA ($p = 0.04$). Moreover, a positive correlation between IA2ab levels and ICA titres was found ($p < 0.001$; $r = 0.50$).

Multiple antibodies

Frequency and sensitivity for different combinations of two and three autoantibodies are shown in table II. A higher prevalence of multiple antibodies among the ICA⁺ groups was observed. None of the ICA⁻ groups showed multiple antibodies for two or three autoantibodies, and most of them (93%) were negative for IAA, GAD65ab and IA2ab. The survival analysis for the

presence of none, one, two, three or four autoantibodies is represented in figure 3. The coefficient risk increased with the number of positive autoantibodies. Therefore, FDR with two, three and four autoantibodies, had 3.4, 6.7 and 18.6 times greater risk of developing IDDM, respectively, than FDR with only one positive autoantibody.

DISCUSSION

In this study we aimed to analyse the risk conferred by other islet cell autoantibodies (IA2ab, GAD65ab and IAA) and the pattern of ICA in FDR of patients with IDDM, to determine which of these markers could better identify future cases of IDDM in a Spanish cohort. We found that the highest risk was associated with the presence of IA2ab (62%) or IAA (60%). The presence of GAD65ab also increased risk as did high ICA titre.

Like other authors⁽³⁾ we have found very few subjects carrying the R-ICA pattern, which have been associated with a decreased risk of progression to clinical IDDM, but we could not demonstrate any association between a particular ICA pattern with a higher prevalence of IAA, GAD65ab or IA2ab. Moreover, the survival analysis for FDR with different ICA pattern did not show differences between FDR with either of the two ICA patterns. Therefore, the analysis of the ICA pattern did not provide additional valuable information.

Our results show a prevalence of GAD65ab of 65% in subjects at clinical onset of IDDM, not basically different from what has been reported by

Rowley⁽²⁴⁾ in Australians (69%) and Morgenthaler⁽²⁵⁾ in the German population (68%). In prediabetic relatives the prevalence was lower (50%) than the observed in newly diagnosed diabetic subjects. The prevalence of GAD65ab in prediabetic relatives was lower than that published by other studies: Zimmet et al. (83%) in Australians⁽²⁶⁾, Thivolet et al. (89%) in French⁽⁷⁾, or Bonifacio et al. (89%) in British⁽¹⁶⁾.

The prevalence of IA2ab among the IDDM patients (67%) is similar to what has been found by Zanone in Italian patients (61%)⁽²⁷⁾ and coincides with the 67% found by Hawkes⁽²⁸⁾. In the group of prediabetic relatives IA2ab were present in 80% of subjects, in concordance with data published by Bonifacio in the British population⁽¹⁶⁾ but higher than what has been reported by other groups^(23, 29). Our prevalence of IA2ab among the ICA⁺ FDR (17%), is in agreement with the 13% found by Bingley⁽²³⁾ and the 17% reported by Bosi⁽³⁰⁾. Antibodies against tyrosine phosphatase-like protein IA2, have been associated with rapid progression to IDDM^(13, 28, 29), however, 5 out of 13 of our relatives positive for this marker (5/13) have not yet developed the disease, after a median time of follow-up of 6 years (range 2 to 9 years). It is remarkable that some individuals remain free of disease after 9 years of follow-up. On the other hand, IA2ab, as a single marker is very informative as it confers 44 times greater risk of IDDM development in FDR carrying it. IAA prevalence was low in all groups. Their presence is associated with young age and they are expected to be useful markers for IDDM prediction in young individuals.

Most of the prediabetic relatives

had more than one antibody marker. In contrast, most of the ICA positive FDR who have not developed IDDM did not have other antibodies. Positivity for multiple antibodies reflects the magnification of the autoimmune response and the reduction of IDDM survival. After 6 years follow-up, 100% of FDR with four antibodies, 67% with 3 antibodies, 25% with two and 7% with only one positive antibody, developed the disease, demonstrating that the risk increases with the number of positive antibodies.

In conclusion, although the determination of ICA is a sensitive screening test, their predictive capacity for IDDM development might be replaced by the use of fluid phase techniques for the determination of islet autoantibodies, such as GAD65 and IA2 antibodies. The detection of these antibodies, may be the first step in prediabetes screening while determination of ICA may supplement the study and prognosis of the prediabetic stage.

ACKNOWLEDGEMENTS

Josefa Morales is a Research Fellow supported by Grant 95/1065 from «Fondo de Investigaciones de la Seguridad Social».

REFERENCES

- 1 Puig-Domingo M, Mauricio D, Morales J, Pérez A, Pimentel A, Rodríguez-Rigual M, Vázquez JA, Igea JM, Quintana B, Alonso M, Barrio R, de la Calle H, Manzano P, Antona J, Flández B, Moreira J, Binimelis J, Codina M, Julia R, de Leiva A. Prediabetes Study Group of the

- Spanish Diabetes Society. Pre-type I diabetes in Spain. *Av Diabetol* 1992;**5** (S2): 57-63.
- 2 Mauricio D, Corcoy R, Codina M, Morales J, Balsells M, de Leiva A. Islet cell antibodies and beta-cell function in gestational diabetic women: comparison to first-degree relatives of type I (insulin-dependent) diabetic subjects. *Diabet Med* 1995;**12**: 1009-1014.
 - 3 Gianani R, Pugliese A, Bonner-Weir S, Shiffrin AJ, Soeldner JS, Erlich H, Awdeh A, Alper CA, Jackson RA, Eisenbarth GS. Prognostically significant heterogeneity of cytoplasmic islet cell antibodies in relatives of patients with type I diabetes. *Diabetes* 1992;**41**: 347-355.
 - 4 Pugliese A, Gianani R, Moromisato R, Zuheir LA, Alper CA, Erlich HA, Jackson RA, Eisenbarth GS. HLA-DQB1*0602 is associated with dominant protection from diabetes even among islet cell antibody-positive first-degree relatives of patients with IDDM. *Diabetes* 1995;**44**: 608-613.
 - 5 Verge CF, Howard NJ, Rowley MJ, Mackay IR, Zimmet PZ, Egan M, Hulinska H, Hulinsky I, Silvestrini RA, Kamath S, Sharp A, Arundel T, Silink M. Anti-glutamate decarboxylase and other antibodies at the onset of childhood IDDM: a population-based study. *Diabetologia* 1994;**37**: 1113-1120.
 - 6 Tuomilehto J, Zimmet P, Mackay IR, Koskela P, Vidgren G, Toivanen L, Tuomilehto-Wolf E, Kohtamaki K, Stengard J, Rowley MJ. Antibodies to glutamic acid decarboxylase as predictor of insulin-dependent diabetes mellitus before clinical onset of disease. *Lancet* 1994;**343**: 1383-1385.
 - 7 Thivolet CH, Tappaz M, Durand A, Petersen J, Stefanutti A, Chatelain P, Vialettes B, Scherbaum W, Orgiazzi J. Glutamic acid decarboxylase (GAD) autoantibodies are additional predictive markers of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus in high risk individuals. *Diabetologia* 1992;**35**: 570-576.
 - 8 Vandewalle CL, Falomi A, Svanholm S, Lemmark A, Pipeleers DG, Gorus FK and the Belgian Diabetes Registry. High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus with clinical onset between age 20 and 40 years. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;**80**: 846-851.
 - 9 Petersen JS, Hejnaes KR, Moody A, Karlsen AE, Marshall MO, Hoier-Madsen M, Boel E, Michelsen BK, Dyrberg T. Detection of GAD65 antibodies in diabetes and other autoimmune diseases using a simple radioligand assay. *Diabetes* 1994;**43**: 459-467.
 - 10 Roll U, Christie MR, Standl E, Ziegler AG. Association of anti-GAD antibodies with islet cell antibodies and insulin auto antibodies in first-degree relatives of type I diabetic patients. *Diabetes* 1994;**43**: 154-160.
 - 11 Serjeantson SW, Court J, Mackay IR, Matheson B, Rowley MJ, Tuomi T, Wilson JD, Zimmet P. HLA-DQ-genotypes are associated with autoimmunity to glutamic acid decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Hum Immunol* 1993;**38**: 97-104.
 - 12 Payton MA, Hawkes AJ, Christie MR. Relationship of the 37,000- and 40,000-Mr tryptic fragments of islet antigens in insulin-dependent diabetes to the protein tyrosine phosphatase-like molecule IA-2 (ICA512). *J Clin Invest* 1995;**96**: 1506-1511.
 - 13 Christie MR, Genovese S, Cassidy D, Bosi E, Brown TJ, Lai M, Bonifacio E, Bottazzo GF. Antibodies to islet 37k antigen, but not to glutamate decarboxylase, discriminate rapid progression to IDDM in endocrine autoimmunity. *Diabetes* 1994;**43**: 1254-1259.
 - 14 Christie M, Hollands JA, Brown TJ, Michelsen BK, Delovitch TL. Detection of pancreatic islet 64,000 Mr autoantigens in insulin-dependent diabetes distinct from glutamate decarboxylase. *J Clin Invest* 1993;**92**: 240-248.
 - 15 Bingley PJ, Bonifacio E, Gale EAM. Can we really predict IDDM? *Diabetes* 1993;**42**: 213-220.
 - 16 Bonifacio E, Genovese S, Braghi S, Bazzigaluppi E, Lampasona V, Bingley PJ, Rogge L, Pastore MR, Boggetti E, Bottazzo GF, Gale EAM, Bosi E. Islet autoantibody markers in IDDM: risk assessment strategies yielding high sensitivity. *Diabetologia* 1995;**38**: 816-822.
 - 17 Christie MR. Characterization of distinct islet protein autoantibodies associated with type I diabetes. *Metabolism* 1992;**41**: 1-3.
 - 18 Puig-Domingo M, de Leiva A and the Prediabetes Study Group of the Spanish Diabetes Society. Pre-type I diabetes in Spain: report of the Spanish diabetes society multicentric pilot survey (Abstract). *Diabetologia* 1993;**36**(S1): A44.
 - 19 Pilcher CC, Elliott RB. A sensitive and reproducible method for the assay of human islet cell antibodies. *J Immunol Methods* 1990;**129**: 111-117.
 - 20 Vardi P, Ziegler AG, Mathews JH, Dib S, Keller RJ, Ricker AT, Wolfsdorf JI, Herskowitz RD, Radizadeh A, Eisenbarth GS, Soeldner JS. Concentration of insulin autoantibodies at onset of type I diabetes: inverse log-linear correlation with age. *Diabetes Care* 1988;**11**: 736-739.
 - 21 Aanstoot HJ, Sigurdsson E, Jaffe M, Shi Y, Christgau S, Grobbee D, Bruining GJ, Molenaar JL, Hofman A, Baekkeskov S. Value of antibodies to GAD combined with islet cell cytoplasmic antibodies for predicting IDDM in a childhood population. *Diabetologia* 1994;**37**: 917-924.
 - 22 Riley WJ, Maclaren NK, Krischer J, Spillar R, Silverstein J, Schatz D, Schwartz S, Malone J, Shaw S, Valdeheim C, Rotter JI. A prospective study of the development of diabetes in relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *New Engl J Med* 1990;**323**: 1167-1172.
 - 23 Bingley PJ, Christie MR, Bonifacio E, Bonfanti R, Shattock M, Fonte M-T, Bottazzo GF, Gale EAM. Combined analysis of autoantibodies improves prediction of IDDM in islet cell antibody positive relatives. *Diabetes* 1994;**43**: 1304-1310.
 - 24 Rowley MJ, Mackay IR, Chen Q-Y, Knowles

- WJ, Zimmet PZ. Antibodies to glutamic acid decarboxylase discriminate mayor type of diabetes mellitus. *Diabetes* 1992;**41**: 548-551.
- 25 Morgenthaler NG, Seissler J, Achenbach P, Glawe D, Payton M, Mienck M, Christie MR, Scherbaum WA. Antibodies to IA-2 in IDDM, stiff man syndrome and autoimmune endocrine diseases: evidence of high specificity for IDDM (Abstract). *Diabetologia* 1996;**69**(suppl. 1): A27.
- 26 Zimmet P, Elliott R, Mackay I, Tuomi T, Rowley MJ, Pilcher CC, Knowles WJ. Autoantibodies to glutamic acid and insulin in islet cell antibody positive preymptomatic type I diabetes mellitus: frequency and segregation by age and gender. *Diabet Med* 1994;**11**: 866-871.
- 27 Zanone MM, Pietropaolo M, Peakman M, James S, Sacchetti C, Quadri R, Chiandussi L, Trucco M, Cerutti F. Sensitivity of GAD65 and ICA512 autoantibodies as disease markers in a population of young insulin-dependent diabetic patients (Abstract). *Diabetologia* 1996;(suppl 1): A86.
- 28 Hawkes CJ, Wasemier C, Christie MR, Hutton JC. Antibodies to two distinct tyrosine phosphatase-like proteins in IDDM (Abstract). *Diabetologia* 1996;**39**(suppl. 1): A37.
- 29 Gianani R, Rabin DU, Verge CF, Yu L, Babu SR, Pietropaolo M, Eisenbarth GS: ICA512 autoantibody radioassay. *Diabetes* 1995;**44**: 1340-1344.
- 30 Bosi E, Bazzigalupia E, Pastore MR, Balini A, Bonfamti R, Dozio N, Belloni C, Genovese S, Meschi F, Bonifacio E. GAD and IA-2 antibodies may replace ICA in primary screening for IDDM risk assessment in relatives (Abstract). *Diabetologia* 1996;**39**(suppl. 1): A38.

QTc interval and diabetic autonomic neuropathy

E. Rodrigues, J.L. Medina, P. Freitas,
A. Barbosa, C. Neves, J. Polónia,
M. Cerqueira-Gomes

Dpts. of Endocrinology, Clinical
Pharmacology, Medicine 2-Faculty of
Medicine. Hospital S. Joao. Porto.

Accepted: Junio 1998

RESUMEN: Investigamos si la longitud del intervalo QTc se correlaciona con los resultados de cinco pruebas de Ewing para el diagnóstico de neuropatía autonómica cardiovascular (NAC) (prueba postural de la presión sanguínea, respuesta de la presión sanguínea al cierre mantenido de la mano, ratio 30:15, prueba de la inspiración profunda y maniobra de Valsalva) en 70 (22 IDDM, 48 NIDDM) pacientes diabéticos seguidos en ambulatorio. La edad media era de 48 ± 15 años, la duración media de la diabetes era de 13 ± 8 años y la HbA1c media era de $9,3 \pm 2,2\%$. El ritmo cardíaco basal y el intervalo QT fueron medidos con regla en un ECG realizado en reposo y el QTc fue calculado de acuerdo con la fórmula de Bazzet. Los pacientes fueron divididos en cuatro grupos de acuerdo con la gravedad de la NAC: 10 sin afectación (NAC -), 27 ligera (NAC +/-), 26 moderada (NAC +) y 7 severa (NAC ++). El porcentaje de pacientes con un QTc mayor que 0,440 segundos era: NAC - = 0%, NAC +/- = 37% (n = 10); NAC + = 50% (n = 13); NAC ++ = 72% (n = 5), y los valores medios (\pm DE) del QTc eran de $0,422 \pm 0,011$; $0,429 \pm 0,032$; $0,438 \pm 0,032$ y $0,454 \pm 0,022$ segundos, respectivamente. Había una correlación positiva entre la duración del QTc y el resultado de las pruebas cardiovasculares ($r = 0,28$; $p < 0,05$).

En conclusión, los resultados de este estudio confirman una relación directa entre la duración del intervalo QTc y la presencia y gravedad de NAC. Así, podemos considerar el QTc como una prueba diagnóstica adicional no invasiva para confirmar la existencia de neuropatía autonómica cardíaca en pacientes diabéticos.

PALABRAS CLAVE: Diabetes mellitus; Neuropatía autonómica cardiovascular; Intervalo QTc; Complicaciones diabéticas; Pruebas de función autonómica.

ABSTRACT: We investigated whether the QTc interval length correlates with the results of the five Ewing tests for the diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy (CAN) (postural blood pressure test, blood pressure response to sustained handgrip, 30:15 ratio deep breathing test and Valsalva's maneuver) in 70 (22 IDDM, 48 NIDDM) consecutive diabetic outpatients. The mean age was 48 ± 15 years, the mean duration of diabetes was 13 ± 8 years, and the mean HbA1c was $9.3 \pm 2.2\%$. Basal heart rate and QT interval were measured with a ruler on an EKG recorded at rest and QTc was calculated according to Bazzet's formula. Patients were classified in four groups according to the severity of CAN: 10 not affected (CAN-), 27 with moderate (CAN+/-), 26 with definite (CAN+) and 7 with severe CAN (CAN++). The percentage of patients with a QTc greater than 0.440 sec was: CAN- = 0%, CAN+/- = 37% (n = 10), CAN+ = 50% (n = 13), CAN++ = 72% (n = 5), and the mean (\pm SD) QTc values were 0.4222 ± 0.011 sec, 0.4292 ± 0.032 sec, 0.4388 ± 0.032 sec, and 0.4544 ± 0.022 sec, respectively. There was a significant correlation between QTc duration and the score of the cardiovascular test results ($r = 0.28$, $p < 0.05$). In conclusion the results of this study confirm a relationship between QTc interval duration and the presence and severity of CAN and so QTc can be considered as an additional non invasive diagnostic tool in the assessment of cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients.

KEY WORDS: Diabetes mellitus; Autonomic neuropathy; QT interval; Autonomic function tests.

INTRODUCTION

Autonomic neuropathy is a well-recognized complication of diabetes mellitus that infers a poor prognosis with increased incidence of sudden death, silent myocardial ischaemia and renal failure⁽¹⁾. It can be detected by non invasive tests of cardiovascular func-

tion even in patients who are clinically asymptomatic. Usually, five tests are used as originally described by Ewing⁽²⁾.

The influence of autonomic tone on the QT interval is widely accepted^(3, 4). The contribution of sympathetic imbalance to QT prolongation and arrhythmias has been demonstrated in different animal models, and in humans plays a par-

ticularly important role in the congenital prolonged QT syndromes⁽⁵⁾. Heart rate adjusted QT interval (QTc) prolongation is therefore considered an indicator of imbalanced distribution of autonomic activity of the heart⁽⁵⁾.

It has been reported that diabetic patients with severe cardiac autonomic neuropathy may have prolongation of QT interval that predisposes to cardiac arrhythmias and sudden death⁽⁶⁻⁸⁾. So, it has been suggested that QTc prolongation in diabetic patients is a consequence of autonomic neuropathy providing this way a pathogenic basis for the occurrence of sudden cardiac death in these patients.

Although several authors have previously demonstrated a relationship between the presence and severity of CAN and the QT interval length⁽⁹⁻¹³⁾, others have reached an opposite conclusion as they found no relationship between these two parameters⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

The aim of this study was to investigate in our series of patients if there is a correlation between QTc interval duration and the results of cardiovascular tests for autonomic neuropathy.

PATIENTS AND METHODS

Patients

We studied seventy consecutive diabetic outpatients, whose clinical characteristics are reported in table I.

Patients with clinically evident ischaemic heart disease or with a basal electrocardiogram with ischaemic changes, or with abnormal serum electrolytes were excluded. None of the patients was affected by or reported a

TABLE I CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS STUDIED

	All patients (n = 70)	CAN- (n = 10)	CAN+/- (n = 27)	CAN+ (n = 26)	CAN++ (n = 7)
Males/females	44/26	5/5	14/13	19/7	5/2
Age (yr)	48 ± 15	40 ± 13	46 ± 17	55 ± 12	53 ± 15
IDDM/NIDDM	22/48	4/6	9/18	7/19	2/5
Disease duration (yr)	13 ± 8	12 ± 9	11 ± 9	15 ± 8	19 ± 7
Hb1Ac (%)	9.3 ± 2.2	9.0 ± 2.3	9.7 ± 1.9	7.9 ± 1.9	10.9 ± 3.3

Results are shown as number or mean ± SD.

family history of long QT syndrome or sudden death.

Cardiovascular tests

All patients were submitted to the five standard cardiovascular tests which were performed as described by Ewing:

1. Blood pressure (BP) in response to standing measurement of the change in systolic BP after the patient stands from a supine position. A drop in BP ≤ 10 mmHg is considered normal, 11-29 mmHg borderline and ≥ 30 mmHg abnormal.
2. Heart rate (HR) in response to standing calculation of the ratio between the HR that occurs at the 15th and 30th beat after standing from a supine position. A value ≥ 1.04 is considered normal, 1.01-1.03 borderline and ≤ 1.0 abnormal.
3. Beat-to-beat rate variation: measurement of the change in HR during deep breathing at 6 cycles/min. A difference ≥ 15 beats/min is considered normal, 11-14 borderline and ≤ 10 abnormal.
4. Valsalva's maneuver: calculation of the quotient of HR during and after Valsalva's maneuver. The

patient blows into a mouthpiece maintaining a pressure of approximately 40 mmHg for 15 seconds. The ratio is calculated between the highest heart frequency during Valsalva and the lowest afterward. A ratio ≥ 1.21 is considered normal, 1.11-1.20 bordering and ≤ 1.10 abnormal. Each outcome was based on the mean of three consecutive measurements.

5. BP response to sustained handgrip: measurement of the change in diastolic BP after sustained handgrip. A rise in BP ≥ 16 mmHg is considered normal, 11-15 mmHg borderline and ≤ 10 abnormal. All tests were graded as normal, borderline or abnormal with a score of 0,1 or 2 respectively. On the basis of the sum of the scores, CAN was considered absent (score < 2, CAN), moderate (score 2-3, CAN+/-), definite (score 4-7, CAN+) and severe (score 8-10, CAN++).

QT Interval

Basal heart rate and QT interval were measured with a ruler on an ECG tracing at rest. Two independent obser-

TABLE II QT INTERVAL IN THE DIFFERENT GROUPS

	CAN- (n = 10)	CAN+/- (n = 27)	CAN+ (n = 26)	CAN++ (n = 7)
QTc > 0.44 sec	0/10	10/27	13/26	5/7
QTc (sec)	0.4222 ± 0.011	0.4292 ± 0.032	0.4388 ± 0.032	0.4544 ± 0.022*

Results are shown as number or mean ± SD. *p = 0.001 versus no CAN (CAN-).

TABLE III COMPARISON BETWEEN PATIENTS WITH QTc > 0.44 AND < 0.44 SEC

	QTc interval duration (sec)		p value
	< 0.44	> 0.44	
Males/females	28/14	15/13	
Age (yr)	48 ± 13	50 ± 17	n.s.
IDDM/NIDDM	13/29	9/19	
Disease duration (yr)	13 ± 9	13 ± 8	n.s.
HbA1c (%)	9.0 ± 2.0	9.5 ± 2.2	n.s.

vers unaware of CAN scores measured at the intervals. The QT interval was measured from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave (crossing the isoelectric line).

The QT interval corrected for the previous cardiac cycle length (QTc) was calculated according to Bazett's formula $QTc = QT/\sqrt{RR}$.

The QTc interval for each subject was taken as mean value of the two readings.

A QTc interval with a duration > 0.440 sec was considered prolonged, as frequently reported in previous studies.

Statistical analysis

Statistical analysis of the data was performed by Student's unpaired t test to evaluate differences between groups (CAN- versus CAN+/-; versus CAN+; versus CAN++). Standard linear regres-

sion was used to establish the relation between QTc and CAN score.

RESULTS

Of the seventy diabetic patients 10 were classified as not affected by CAN, 27 with moderate CAN, 26 with definite CAN and 7 with severe CAN. The clinical characteristics of the different groups are shown in table I.

There were no significant differences in what concerns age, disease duration and glycosilated haemoglobin between patients without CAN and those affected by CAN.

Patients with severe CAN showed a longer QTc interval than patients in the other groups (Table II) although the difference was only significant when compared with the group without CAN (p = 0.001).

A prolonged QTc interval was

found in 28 patients (40%). The percentage of patients with QTc prolonged in the different groups was: CAN- 0%, CAN+/- 37%, CAN+ 50%, CAN++ 72% (Fig. 1).

A significant correlation was found between QTc interval duration and the total cardiovascular autonomic score (r = 0.28, p < 0.05; Fig. 2).

There were no differences in age, sex, glycosilated haemoglobin, type and duration of diabetes between patients with a QTc > 0.44 sec and patients with a QTc < 0.44 sec (Table III).

DISCUSSION

In this study, we investigated the relationship between QT interval duration and cardiac autonomic neuropathy in a group of seventy consecutive diabetic patients.

Our results confirmed the previous observations of a correlation between QTc interval prolongation and presence and degree of autonomic dysfunction in diabetes. Patients with severe CAN showed a significantly longer QTc interval than patients with absent CAN and a significant correlation was observed between QTc and total score of cardiovascular tests. All patients with a prolonged (> 0.440 sec) resting QTc interval had evidence of CAN. However 53% (32 of 60) of patients with CAN had a normal QTc interval. Therefore the QTc interval alone can not be used to assess CAN.

The relationship between QTc interval and CAN has been extensively studied and its interest derives from the fact that autonomic nervous system influences QT interval duration and

from the hypothesis that QT interval prolongation could represent one of the causes of the increased sudden death observed in these patients.

According to a Consensus Statement on Standardized Measures in Diabetic Neuropathy, sponsored by the American Diabetes Association and the American Academy of Neurology, the QTc interval is considered a specific, reproducible standardized and easy test for autonomic function.

In conclusion the QTc interval is an additional non invasive diagnostic tool in the assessment of CAN in diabetic patients, but it does not replace the standard battery of cardiovascular tests. It's simplicity enables routine measurements in diabetic patients treated in outpatient clinics. An abnormal resting QTc interval may be objective evidence for CAN and the longer it is, the more severe the CAN. However a normal resting QTc interval does not exclude CAN.

REFERENCES

- 1 Ewing DJ, Campell IW, Clarke BF. Mortality in diabetic autonomic neuropathy. *Lancet* 1976; **1**: 601-603.
- 2 Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ et al. The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985; **8**: 491-498.
- 3 Bexton RS, Vallin HO, Camm AJ. Diurnal variation of the QT interval - influence of the autonomic nervous system. *Br Heart J* 1986; **55**: 253-258.
- 4 Browne KF, Zipes DP, Hegger JJ et al. Influence of the autonomic nervous system on the QJ interval in man. *Am J Cardiol* 1982; **50**: 099-1103.
- 5 Moore E. Mechanisms and models to predict a QTc effect. *Am J Cardiol* 1993; **72**: 4B- 9B.
- 6 Kahn JK, Sisson JC, Vinik AI. QT interval prolongation and sudden cardiac death in diabetic autonomic neuropathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; **64**: 751-754.
- 7 Bellavere F, Ferri M, Guarini L, et al. Prolonged QT period in diabetic autonomic neuropathy: a possible role in sudden cardiac death? *Br Heart J* 1988; **59**: 379-383.
- 8 Ewing DJ, Boland O, Neilson JMM, et al. Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients. *Diabetologia* 1991; **34**: 182-185.
- 9 Ewing DJ, Neilson JMM. QT interval length and diabetic autonomic neuropathy. *Diabetic Med* 1990; **7**: 32-26.
- 10 Gonin JM, Kadrofske MM, Schmaltz, et al. Corrected QT interval prolongation as diagnostic tool for assessment of cardiac autonomic neuropathy in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1990; **13**: 68-71.
- 11 Chambers JB, Sampson MJ, Sprigings DC, Jackson G. QT prolongation on the electrocardiogram in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetic Med* 1990; **7**: 105-110.
- 12 Sivieri R, Veglio M, Chinaglia A, et al. Prevalence of QT prolongation in a type I diabetic population and its association with autonomic neuropathy. *Diabetic Med* 1993; **10**: 920-924.
- 13 Veglio M, Chinaglia A, Borra M, et al. Does abnormal QT interval prolongation reflect autonomic dysfunction in diabetic patients? QTc Interval measure versus standardized tests in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetic Med* 1995; **12**: 302-306.
- 14 Bravenboer B, Hendriksen PH, Oey LP, et al. Is the corrected QT interval a reliable indicator of the severity of cardiac autonomic neuropathy? *Diabetes Care* 1993; **16**: 1249-1253.
- 15 Lo SS, Sutton MSJ, Leslie RDG, et al. Information on type I diabetes mellitus and QT interval from identical twins. *Am J Cardiol* 1993; **72**: 305-309.
- 16 Schnell O, Stenner T, Standl E, Haslbelck M. The diagnostic value of the rate corrected QT interval in long term type I diabetes mellitus (abstract). *Dtsch med Wochenschr* 1996; **121**(25-26): 819-22.

Prevalencia de afectación renal en la población con diabetes mellitus tipo 2 (no dependiente de insulina) en la Comunidad de Madrid

B. Zorrilla, J.L. Cantero, R. Bueno, J. Barazgoitia¹, A.L. Calle Pascual², por el Grupo Colaborativo de la Comunidad Autónoma de Madrid para el Estudio de la Nefropatía en la Diabetes³

Servicio de Epidemiología. Consejería de Sanidad y Servicios Sociales. CM.

¹Laboratorio de Diabetes. Hospital Universitario San Carlos. ²Coordinador del Programa de Diabetes de la CM. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario San Carlos. Madrid. ³Apéndice 1.

Correspondencia: Alfonso L. Calle Pascual. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario S. Carlos. c/ Profesor Martín Lagos s/n. E-28040 Madrid. Belén Zorrilla. Servicio de Epidemiología. Consejería de Sanidad y Servicios Sociales. c/ O'Donnell 52- 2ª planta. E-28009 Madrid

RESUMEN: Conocer cual es la situación actual de las personas con diabetes es el paso previo para planificar la asistencia de dichas personas.

Con la intención de conocer la prevalencia de afectación renal de las personas con diabetes residentes en la Comunidad de Madrid, 737 pacientes con diabetes tipo 2 (no dependiente de insulina) (61,4% de la muestra aleatoria extraída del libro de morbilidad de 82 centros de Atención Primaria de la CM, y 86,5% de los respondedores) fueron evaluados en 1997. La mediana de edad fue 62 años y del tiempo de evolución 7 años. El 47,6% fueron varones, el 27,6% están tratados sólo con dieta y el 24,4% sólo con insulina. El 53,3% tenían hipertensión arterial definida, y el 20,4% eran fumadores.

La prevalencia de microalbuminuria fue del 14,5% (IC 95%: 11,1-18,5) para los hombres y 11,7% (IC 95%: 8,7-15,1) para las mujeres, mientras que la de macroalbuminuria fue de 6,0% (IC 95%: 3,3-8,8) y del 1,3% (0,5-2,8) respectivamente.

La exposición a obesidad, distribución central de la grasa corporal, control glucémico inadecuado, tiempo de evolución prolongado, hipertensión arterial definida y fumador activo de igual forma que el sexo varón, se asocian a la presencia de afectación renal.

En conclusión, la prevalencia de afectación renal en la CM es menor que la referida para España ó Cataluña. La determinación de microalbuminuria se debe de realizar de forma rutinaria para detectar personas con mayor riesgo para desarrollar nefropatía establecida y mayor morbimortalidad cardiovascular. Diferentes estrategias deben de ser desarrolladas para prevenir dicha situación.

PALABRAS CLAVE: Microalbuminuria. Hipertensión. HbA1c. Obesidad central. Tabaquismo. Prevención. Comunidad de Madrid. Diabetes mellitus tipo 2.

ABSTRACT: Knowing which is the current situation of people with diabetes mellitus is an indispensable step in the study of this disorder and in planning diabetes care.

In order to know the prevalence of diabetic nephropathy and the associated risk factors, 737 type 2 diabetic patients (age 62 years, disease duration 7 years, 47.6% males, 27.6% on diet alone, 24.4% on insulin treatment), living in Community of Madrid (61.4% of random sample obtained from morbidity book of 82 Primary Health Care Centres) were studied in 1997. 53.3% had arterial hypertension and 20.4% were current smokers.

The prevalence of microalbuminuria was 14.5% (CI 95%: 11.1-18.5) for males and 11.7% (CI 95%: 8.7-15.1) for females respectively. The prevalence of macroalbuminuria was 6.0% (CI 95%: 3.3-8.8) for males and 1.3% (CI 95%: 0.5-2.8) for females respectively. Risk factors associated with diabetic nephropathy were obesity, visceral body fat distribution, poor glycaemic control, arterial hypertension, and current smokers.

These data show that prevalence of diabetic nephropathy in CM is less than those reported in other areas of Spain. The screening of diabetic nephropathy should be carried out in an ordinary medical office setting. Several strategies in order to reduce tobacco consumption and weight reduction of obese type 2 diabetic subjects should be developed to prevent diabetic nephropathy.

KEY WORDS: Microalbuminuria. HbA1c levels. Visceral body fat distribution. Tobacco. Prevention. Community of Madrid. Type 2 diabetes mellitus.

INTRODUCCIÓN

En España, de forma similar a otros países desarrollados, la diabetes mellitus es un importante problema de salud pública, tanto por su alta prevalencia⁽¹⁻³⁾, como por ser una importante causa de incapacidad y de mortalidad prematu-

ra por insuficiencia renal, retinopatía y ceguera, amputaciones no traumáticas de miembros inferiores⁽⁴⁻¹⁰⁾, y factor de riesgo importante en el desarrollo de otras complicaciones⁽¹¹⁾.

La prevalencia de diabetes conocida estimada a través de la muestra para la Comunidad de Madrid (CM) de la

encuesta nacional de salud de los años 87/93 es en ambos años de 3,1% en mayores de 16 años, lo que supone que hay alrededor de 130.000 personas con diabetes diagnosticada, siendo similar a la referida en otras Comunidades⁽¹⁻³⁾, y basándonos en los resultados de estos estudios cabe estimar que habría además entre 90.000 y 130.000 personas con diabetes no diagnosticada.

Desde el punto de vista de la salud pública, el punto más susceptible a la intervención es la prevención primaria y secundaria en el desarrollo de las complicaciones tardías y/o sus consecuencias. Para desarrollar y evaluar estrategias de este tipo es imprescindible conocer la situación de partida.

Desde 1995 la Comunidad de Madrid dispone de Consejo Asesor para la Diabetes, y de un Programa de Diabetes de la CM. Dentro de este programa de vigilancia se ha considerado relevante llevar a cabo estudios para estimar la prevalencia de complicaciones de la diabetes. La determinación de microalbuminuria no sólo está relacionada con el diagnóstico de la afectación renal⁽¹²⁾, sino que está asociada con un riesgo alto para padecer otras enfermedades cardiovasculares⁽¹³⁻¹⁶⁾ y retinopatía⁽¹⁷⁾. Además, la microalbuminuria está asociada con muchos de los factores de riesgo clásicos relacionados con el síndrome metabólico, pudiendo ser prevenida con un control estricto de la glucemia⁽¹⁸⁾. Por lo tanto, es un parámetro importante bajo el punto de vista de la salud pública y de la planificación sanitaria para diseñar estrategias adecuadas, realizar una intervención precoz y poder mejorar al máximo el cuidado de las personas con la enfermedad.

El objetivo de este estudio ha sido estimar la prevalencia de afectación renal, micro y macroalbuminuria, en las personas con diabetes mellitus tipo 2 (no dependiente de insulina) identificadas por la red de Atención Primaria de la CM.

DISEÑO EXPERIMENTAL

La población estudiada ha sido el conjunto de personas con diagnóstico de diabetes establecido por un médico, residentes en la Comunidad de Madrid desde al menos los 6 meses previos a la realización de la encuesta y con edades comprendidas entre 30 y 70 años. Dicha población fue identificada en los centros de salud de la red sanitaria pública de Atención Primaria a través del libro de morbilidad de la diabetes mellitus.

Como diabetes tipo 2 (no dependiente de insulina) se ha considerado a los pacientes tratados con dieta y/o con hipoglucemiantes o antidiabéticos orales y a los tratados con insulina diagnosticados después de los treinta años o, en caso de ser diagnosticados antes de los treinta años, haber estado al menos durante un año desde su diagnóstico sin tratamiento con insulina.

Marco muestral

La muestra de la población con diabetes tipo 2 (no dependiente de insulina) fue obtenida a través de un muestreo por conglomerados bietápico con estratificación de las unidades de primera etapa. Las unidades de primera etapa están constituidas por los centros de salud, entendidos como el

conjunto de médicos que atienden una zona básica de salud con una estructura de funcionamiento determinada (equipos de Atención Primaria o centros con sistema de funcionamiento tradicional). Las unidades de segunda etapa estaban constituidas por los pacientes identificados entre la población adscrita a los centros e incluidos en el libro de morbilidad de diabetes mellitus. Todos los pacientes diagnosticados de diabetes mellitus que acuden a visitar a un médico de Atención Primaria deben ser incluidos en el libro de registro. La selección de los centros se ha realizado por muestreo con restitución y con probabilidad proporcional al número de médicos adscritos al centro, estratificando según fueran EAP, o centros con funcionamiento tradicional. La selección de pacientes se llevó a cabo por muestreo sistemático o aleatorio dependiendo de que el registro estuviese o no ordenado por alguna de las variables relevantes. La fracción de muestreo de los pacientes es proporcional al número medio de pacientes diabéticos por médico con una media final de 14,2 pacientes por centro.

La muestra incluyó a 82 centros (10 de cupo, 26,7%), 573 médicos de Atención Primaria (30%) y el listado final estaba compuesto por 13.493 pacientes de los que se extrajo una muestra aleatoria de 1.200 pacientes (calculada en función de una prevalencia estimada mayor del 20%, y un índice de respuesta de 2/3) una vez excluidos los pacientes que no cumplían los criterios de inclusión. El porcentaje de respuesta inicial fue del 71%, habiéndose finalmente alcanzado una muestra de 852 diabéticos entre 30 y 70 años.

Los sesgos potenciales secundarios a la no respuesta fueron analizados. Los datos recogidos en la muestra seleccionada nos han permitido comparar la distribución por edad, sexo, tipo de diabetes y años de evolución de la enfermedad entre los que finalmente fueron encuestados y los que no se entrevistaron. Aparecen diferencias entre los varones, siendo algo más jóvenes los que no aceptaron ($57,2 \pm 8,8$ contra $58,8 \pm 8,4$ años; $p < 0,05$) y con menos tiempo de evolución de la enfermedad ($6,9 \pm 6,6$ contra $7,71 \pm 7,1$ años, $p < 0,05$).

RECOLECCIÓN DE DATOS, PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO Y DEFINICIÓN DE VARIABLES

Las variables relativas a las características personales y clínicas del paciente y consumo de alcohol y tabaco se han recogido a través de un cuestionario y una exploración física. Se obtuvieron datos antropométricos que incluían el peso (pesado sin ropa pesada), la talla, perímetro de la cintura (valor medio de 3 mediciones del perímetro menor supraumbilical) y cadera (a nivel del trocánter mayor, retirando faldón graso cuando fue necesario) y tensión arterial (en condiciones de reposo, dos veces con intervalos de 2 min y una tercera vez si la diferencia entre las dos mediciones era superior a 5 mm Hg). Los procedimientos están descritos en detalle en el manual de procedimientos de que disponían los encuestadores.

Se calculó el índice de masa corporal (IMC) como la relación entre el peso (kg) y la talla al cuadrado (en

metros). Se considera las siguientes categorías: peso normal ($< 25 \text{ kg.m}^{-2}$), sobrepeso (entre 25 y $29,9 \text{ kg.m}^{-2}$) y obesidad (entre 30 y $39,9 \text{ kg.m}^{-2}$) siendo considerada como mórbida cuando era $> 40 \text{ kg.m}^{-2}$. Se ha considerado obesidad central si la relación entre la cintura y cadera era $> 0,9$ en varones y $> 0,86$ en mujeres y obesidad periférica en caso contrario.

Según los niveles de tensión sistólica (TAS) y diastólica (TAD), se han clasificado los pacientes en las siguientes categorías:

- *Normotenso*: TAS < 140 mm Hg con TAD < 90 mm. Hg y sin tratamiento farmacológico antihipertensivo.
- *Hipertensión límite*: $140 \leq \text{TAS} < 160$ ó $90 \leq \text{TAD} < 95$ sin tratamiento.
- *Hipertensión definida*: TAS ≥ 160 o TAD ≥ 95 o en tratamiento farmacológico antihipertensivo (O.M.S. 1978)
Consumo de tabaco:
- *No fumador*: declara que no fuma actualmente.
- *Fumador diario*: fuma diariamente: consumo moderado: 1-9 cig/día; consumo alto: 10 a 19 cig/día; consumo excesivo: > 19 cig/día.

Para establecer el grado de control metabólico se determinó la hemoglobina glicada en una muestra de sangre capilar ($10 \mu\text{l}$) hemolizada en el momento de la extracción y conservada a 4° hasta su procesado. El método de laboratorio utilizado ha sido la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) siguiendo el procedimiento recomendado por Merck/Hitachi (Merck/Hitachi L-9100). El rango de referencia es de 2,9 a 4,2% y el coeficiente de

variación interanálisis del 8,8%. Las categorías de control metabólico son: bien controlados: HbA1c $<$ media + 6 DEM y mal controlados: HbA1c $>$ media + 6 DEM.

Para establecer la presencia y el nivel de afectación renal incipiente, se realizó un test de cribaje semicuantitativo con tira reactiva (micraltest II) en una muestra de orina fresca recogida en el momento de la entrevista. Si la prueba resultaba positiva, se llevó a cabo la determinación cuantitativa de albúmina en orina en 2 muestras de orina producida durante el reposo nocturno en 2 días consecutivos. Se descartaron las muestras con infección urinaria (pH $< 6,5$ y nitritos +) o indicios de sangre en orina a través de técnicas semicuantitativas (Multistix/Bayer).

La determinación cuantitativa de albuminuria se ha llevado a cabo por RIA utilizando el kit de Pharmacia albumin RIA (Pharmacia AB, S-75182, Uppsala, Sweden). El coeficiente de variación interensayo es $< 7,5\%$, y el intraindividual del 22%.

Para ser clasificado dentro de las diferentes categorías de excreción urinaria de albúmina (EUA) un individuo debe tener al menos 2 orinas con una EUA en el rango correspondiente. Los pacientes fueron clasificados en las siguientes categorías:

- *Normoalbuminuria*: micral test negativo, o si positivo EUA $< 20 \mu\text{g/min}$ en al menos una muestra de la orina nocturna.
- *Microalbuminuria*: pacientes con micraltest positivo y EUA entre 20-200 $\mu\text{g/min}$ en las dos muestras nocturnas.
- *Macroalbuminuria*: pacientes con micraltest positivo y EUA > 200

TABLA I PREVALENCIA (INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%) DE MICRO, MACRO Y NORMOALBUMINURIA POR SEXO EN 737 PERSONAS CON DIABETES TIPO 2 (NO INSULINODEPENDIENTE) DE LA COMUNIDAD DE MADRID

	Hombres n= 351	Mujeres n= 386	Total n= 737
Normoalbuminuria	79,5% (74,8-83,5)	87% (83,2-90,1)	83,4% (80,5-86,0)
Microalbuminuria	14,5% (11,1-18,5)	11,7% (8,7-15,1)	13% (10,5-15,6)
Macroalbuminuria	6,0% (3,8-8,8)	1,3% (0,5-2,8)	3,1% (2,3-5,0)

TABLA II CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS PERSONAS CON DIABETES TIPO 2 (NO INSULINODEPENDIENTE) DE LA CM CON FUNCIÓN RENAL NORMAL Y CON AFECTACIÓN RENAL (MICRO Ó MACROALBUMINURIA)

	Excreción urinaria de albumina		Total n= 737	Estudio Estadístico ¹
	Normal n= 615	>20 µgr/min n= 122		
Sexo: varón/mujer	45,4%/54,6%	59,0%/41,0%	47,6%/52,4%	* p = 0,007
Edad #	62 (56-66)	62 (55-67)	62 (56-66)	** N.S.
Años de evolución #	6 (3-13)	10 (5-16)	7 (3-14)	** p = 0,0002
Tratamiento: insulina/H.O./				
Dieta(%)	20,2/49,6/30,2	48,4/39,3/12,3	24,8/47,9/27,3	*** p = 0,0000
HbA1c(%)# (N:2,9-4,2)	5,5 (4,7-6,6)	6,4 (5,2-7-6)	5,7 (4,7-6,8)	** p = 0,0000
IMC (kg.m ²)#	28,6 (26,0-32,4)	30,1 (27,0-33,4)	28,8 (26,2-32,6)	** p = 0,01
Obesidad P/C	27,2%/72,8%	15,3%/84,7%	25,2%/74,8%	* p = 0,009
HTA definida	49,9%	70,5%	53,3%	*** p = 0,0000
TAS #	143 (130-159)	155 (140-173)	145 (130-160)	** p = 0,0000
TAD #	82 (76-90)	87 (80-93)	83 (77-90)	** p = 0,0002
Fumadores	18,5%	29,5%	20,4%	* p = 0,008

Mediana (Q1-Q3).¹Normoalbuminuria contraafectación renal: * x² Pearson con corrección de Yates. **Prueba de Mann Witney. ***Prueba x² de Pearson.

µg/min en las dos muestras de orina nocturna.

El trabajo de campo lo llevaron a cabo tres médicos entrenados en la realización del cuestionario, la extracción de muestras y la toma de la tensión arterial. Se diseñó un manual de procedimientos detallado para normalizar y

disminuir en lo posible los sesgos en el desarrollo del trabajo de campo.

De las 852 personas con diabetes respondedoras, se excluyeron en el primer muestreo a 105 por presentar indicios de sangre en orina y 87 por presentar pH > 6,5 y nitritos positivos. Estas 87 personas fueron reevaluadas

3 meses después y se obtuvieron muestras de orina válidas para analizar en 77 casos. No se hicieron más esfuerzos en reevaluar a otras personas. En total la muestra estudiada incluye a 737 personas con diabetes (61,4% de la muestra y 86,5% de los respondedores). La mediana de edad de dicha población es 62 años y el rango intercuartílico de 56-66 y del tiempo de evolución de 7 años⁽³⁻¹⁴⁾. El 47,6% fueron varones, el 27,6% están tratados con dieta, 48% con antihiperoglucemiantes o hipoglucemiantes orales y 24,4% con insulina. El 53,3% tenían hipertensión arterial definida, y el 20,4% eran actualmente fumadores.

PROCEDIMIENTOS ESTADÍSTICOS

Para analizar la asociación de la afectación renal con las variables recogidas en el estudio, se llevó a cabo, en primer lugar, un análisis bivariante para el que se ha utilizado en el caso de las variables cualitativas, la X² con corrección de Yates (variables dicotómicas) y la X² de Pearson (variables con más de 2 categorías). Para las variables cuantitativas se ha utilizado la prueba de Mann Whitney.

Posteriormente, se ha estimado la medida de la asociación entre las diferentes variables y la presencia de afectación renal mediante una regresión logística calculando las «odds ratio». El procedimiento utilizado ha sido el método «Enter» de SPSS versión 6.1. En el modelo se incluyeron las variables sexo, tratamiento con insulina y consumo actual de tabaco como variables binarias. La obesidad y la hipertensión arterial se incluyeron como

variables con categorías múltiples utilizando como categoría de referencia para el cálculo de la odds ratio las categorías «peso normal» y «normotensos», respectivamente.

Los valores de las variables cuantitativas se expresan como mediana y rango intercuartílico (Q1 y Q3).

RESULTADOS

De las 737 personas con diabetes tipo 2 (no insulino dependiente), 615 no presentaron alteración renal alguna (83,4%; IC 95%: 80,5-86,0). En la tabla I se muestra la prevalencia de micro y macroalbuminuria según sexo.

En la tabla II se muestran las características clínicas de los pacientes con afectación renal. La mediana de la HbA1c (6,4 contra 5,5%), del tiempo de evolución (10 contra 6 años) y la tensión arterial sistólica (155 contra 143 mm Hg) y diastólica (87 contra 82 mm Hg) fueron significativamente mayores en los pacientes con afectación renal en relación a los normoalbuminúricos. De forma similar, la prevalencia de pacientes con hipertensión arterial definida (70,5 contra 49,9%), con distribución central de la grasa (84,7 contra 72,8%) y fumadores activos (29,5 contra 18,5%), fue significativamente mayor entre los pacientes con afectación renal.

La tabla III muestra el análisis de regresión logística con las variables discretas. La exposición a obesidad, distribución central de la grasa corporal, control glucémico inadecuado, hipertensión arterial definida y fumador activo de igual forma que el sexo varón, se asocian a la presencia de afectación renal.

TABLA III ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA: ODDS RATIO (OR), INTERVALO DE CONFIANZA Y NIVEL DE SIGNIFICACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE AFECTACIÓN RENAL Y LAS VARIABLES ESTUDIADAS EN PERSONAS CON DIABETES TIPO 2 (NO INSULINODEPENDIENTE) DE LA CM

Exposición	O.R.	I.C. 95%	p
Sexo varón	2,2	1,3-3,8	0,002
Sobrepeso, distribución periférica	0,5	0,10-2,55	N.S.
Sobrepeso, distribución central	2,8	1,35-6,01	0,006
Obesidad, distribución periférica	4,2	1,53-10,74	0,003
Obesidad, distribución central	3,9	1,87-7,52	0,0003
Nivel de HbA1c	1,26	1,08-1,48	0,003
Tratamiento con insulina	4,3	2,48-6,6	0,0000
Consumo actual de tabaco	2,46	1,42-4,27	0,001
Hipertensión arterial límite	1,48	0,68-3,22	N.S.
Hipertensión arterial definida	2,96	1,54-5,60	0,0009

TABLA IV PREVALENCIA DE AFECTACIÓN RENAL SEGÚN SEXO Y AÑOS DE EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

	Años de evolución					
	< 7 años n = 363		7 a 14 años n = 180		14 años y más n = 188	
	Excreción urinaria de albúmina (µg/min.)					
	20-200	> 200	20-200	> 200	20-200	> 200
Sexo						
Varón	11,5%	4,4%	18,1%	5,1%	16,9%	9,6%
Mujer	8,3%	1,1%	7,2%	1,0%	21,9%	1,9%
Total	9,9%	2,8%	12,2%	3,3%	19,7%	5,3%
No consta: 6 casos						

De una forma similar, la prevalencia de afectación renal, tanto de micro, como de macroalbuminuria se incrementa de forma significativa con el tiempo de evolución de la enfermedad (Tabla IV), pero no con la edad (Tabla V) de los pacientes.

DISCUSIÓN

Hasta nuestro conocimiento, en el

momento actual la mayoría de los estudios existentes en relación a las complicaciones en las personas con diabetes tipo 2 (no insulino dependiente) se han llevado a cabo en muestras muy seleccionadas y, generalmente, extraídas en atención especializada. Este nivel atrae los casos de más difícil control y con más complicaciones y tienen más posibilidades de ser incluidos simplemente por que acuden más frecuentemente. Todo ello favorece la

TABLA V PREVALENCIA DE AFECTACIÓN RENAL SEGÚN SEXO Y GRUPOS DE EDAD

Sexo	<i>Grupos de edad</i>							
	30-40 n = 18		41-50 n = 62		51-60 n = 236		61-70 n = 421	
	<i>Excreción urinaria de albúmina (µg/min.)</i>							
	20-200	>200	20-200	>200	20-200	>200	20-200	>200
Varón	9,1%	0	17,6%	5,9%	15,4%	2,9%	13,9%	7,9%
Mujer	0	0	14,3%	0	11,4%	0,8%	11,9%	1,8%
Total	5,6%	0	16,1%	3,2%	13,1%	1,7%	12,6%	4,8%

existencia potencial de sesgos. El estudio del Grupo Catalán para el estudio de la Nefropatía Diabética⁽⁹⁾ obtuvo tan sólo el 52% de su muestra en la Atención Primaria, mientras que en el estudio del Grupo de trabajo de Nefropatía Diabética de la Sociedad Española de Diabetes⁽¹⁰⁾ el 60% de la muestra procedía de Atención Primaria. Esta proporción se estima en función de los resultados de un estudio realizado en Cataluña⁽¹⁹⁾, donde la atención especializada se responsabiliza en exclusiva del seguimiento de determinados pacientes. Sin embargo, en el modelo sanitario público español, que cubre más del 99% de la población, las medicinas prescritas en el talonario oficial son subvencionadas en, al menos, el 70% de su valor. Aunque la primera prescripción se puede hacer a nivel especializado, lo más habitual, sobre todo en enfermedades crónicas, es que dicha prescripción se realice en Atención Primaria. Por otro lado, en la CM existen subprogramas de diabetes, dentro del programa del adulto, prácticamente en todas las áreas sanitarias desde, al menos, 1992. El objetivo prioritario de estos subprogramas es la captación e identificación de las per-

sonas con diabetes. Las personas identificadas se registran automáticamente en el libro de morbilidad. Esto nos ha permitido utilizar como marco muestral el registro de morbilidad de diabetes mellitus de los centros de Atención Primaria, evitando los sesgos inherentes a otros tipos de selección de enfermos y controlar sesgos derivados de la falta de respuesta, que los estudios previos no lo tienen garantizado.

La prevalencia de afectación renal incipiente encontrada en nuestro estudio, es similar a la estimada para Londres y Bruselas⁽²⁰⁾, pero inferior a la estimada en otros estudios llevados a cabo en otros países de Europa^(20,21) y en España^(9,10). Probablemente las diferencias se deban a diferencias en los protocolos de estudio. Las diferencias con los estudios llevados a cabo en España y Cataluña se refieren fundamentalmente a la prevalencia de microalbuminuria, y esto puede ser consecuencia del marco muestral. Estos pacientes al ser habitualmente asintomáticos sólo son detectados tras pruebas de cribaje, por lo que parece lógico pensar que el marco muestral más adecuado debe de ser la Atención Pri-

maria, más que en especializada. Si tenemos en cuenta además que las diferencias entre la prevalencia encontrada de macroalbuminúricos es prácticamente inexistente, es decir, son capturados también a partir de la muestra de Atención Primaria, se puede inferir que nuestro marco muestral es más correcto y los resultados obtenidos en nuestro estudio representan más fidedignamente a la población general con diabetes tipo 2.

Como cabía esperar en relación a estudios previos, se ha encontrado asociación entre la presencia de micro y macroalbuminuria y el tratamiento con insulina, los años de evolución de la diabetes, la edad de diagnóstico (que desaparece cuando se corrige en función del tiempo de evolución), nivel de hemoglobina glicada y mayor porcentaje con mal control metabólico, índice de masa corporal superior y mayor porcentaje de obesos, mayores niveles de tensión diastólica y sistólica y mayor porcentaje de hipertensos.

Evidentemente, la asociación de nefropatía con el tratamiento con insulina parece más efecto que no causa. La relación entre el grado de control glucémico medido por la HbA1c actual o tras su transformación en variable discreta, el control metabólico pobre, el tiempo de evolución de la enfermedad y la nefropatía ha sido establecido de forma clara en estudios con diabéticos tipo 1⁽¹⁸⁾ y parece evidente también para los pacientes con diabetes tipo 2 que la mejor forma de prevenir su aparición es alcanzar unos perfiles glucémicos lo más cercanos posible al de los no diabéticos^(12,21,22). Teniendo en cuenta que sólo el 25% (Q1) de los

pacientes se encontraban entre la media y 6 DEM del valor de la HbA1c, la primera consecuencia del trabajo actual es que se deben de diseñar estrategias adecuadas para mejorar la calidad del tratamiento global de las personas con diabetes para inducir un descenso en el valor de la HbA1c. De forma similar, la asociación entre hipertensión arterial, porcentaje de hipertensos y cifras de tensión arterial más elevadas, y aparición de microalbuminuria o progresión a macroalbuminuria, también está claramente establecida en la literatura⁽²¹⁻²⁴⁾. Como para el diagnóstico de la hipertensión arterial, además de la existencia de diagnóstico previo y/o tratamiento farmacológico, se incluyeron también las cifras de tensión arterial de ese momento (aunque tomada en circunstancias muy cercanas a las recomendadas para establecer el diagnóstico), éstas fueron mayores de las consideradas en el consenso de tratamiento, tanto americano, como europeo^(23,24), al ser tomadas en una sola ocasión. A pesar de ello, más del 50% de los pacientes tenían hipertensión arterial, y más del 75% por encima de las consideradas óptimas. Si tenemos en cuenta que la prevalencia de hipertensión arterial definida es el doble entre los pacientes con afectación renal en relación a los que no la tienen, otra consecuencia de nuestro estudio es que hay que desarrollar estrategias para lograr controlar la tensión arterial de forma más efectiva.

De forma semejante al estudio del Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Diabetes⁽¹⁰⁾, tras realizar el estudio de regresión logística, mantiene su significación estadística el sexo masculino como factor de riesgo indepen-

diente de otros factores de riesgo, para presentar afectación renal.

Además de estos factores definidos previamente, la obesidad y la distribución central de la grasa corporal están también asociados al desarrollo de nefropatía. Es interesante esta asociación, pues la obesidad y la distribución central de la grasa corporal se asocia a resistencia a la insulina⁽²⁵⁻²⁷⁾. A juicio de algunos autores⁽²⁸⁾ esto puede ser consecuencia de un déficit de crecimiento en etapas precoces de la vida, o consecuencia de un modo de vida propio de los países desarrollados⁽²⁹⁻³⁰⁾. Por otro lado, se ha demostrado una correlación negativa entre el nivel de actividad física cotidiana y la prevalencia de microalbuminuria⁽³¹⁾, sugiriendo que la actividad física cotidiana puede ser el nexo de unión entre la obesidad central, la resistencia a la insulina⁽³²⁾ y la afectación renal. Lamentablemente en este estudio no hemos valorado el nivel de actividad física, pero sí consideramos que, tanto la obesidad central, como la microalbuminuria son factores de riesgo de morbilidad cardiovascular, y que ambos pueden estar unidos y/o potenciados por el sedentarismo, otra consecuencia de los resultados de nuestro estudio es que se pueden desarrollar estrategias de intervención relativamente sencillas bajo el punto de vista de salud pública, para prevenir la morbilidad cardiovascular de estas personas favoreciendo la realización de ejercicio físico cotidiano.

Por último y de forma semejante a los otros estudios españoles^(9,10), el tabaquismo se asocia al desarrollo de nefropatía como factor independiente. Sabido es que los fumadores pre-

sentan una distribución central de grasa corporal y un mayor grado de resistencia a la insulina^(33,34), pudiendo ser también el nexo de unión entre el hábito tabáquico y la nefropatía al igual que otros factores de riesgo y la nefropatía. Por ello, y bajo el punto de vista de la salud general además de la de la persona con diabetes se puede utilizar un argumento más para favorecer el cese del hábito tabáquico.

En conclusión, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la EAU debe medirse de forma rutinaria en el manejo de los pacientes diabéticos tipo 2 (no insulino dependientes) para detectar pacientes con nefropatía incipiente que se asocia a unos valores de los objetivos del tratamiento de la diabetes mellitus más peiorativos y que presentan mayor riesgo para desarrollar nefropatía establecida y mayor morbilidad cardiovascular. Si tenemos en cuenta que dichas situaciones pueden ser prevenidas, en relación a los datos obtenidos en este estudio, diferentes estrategias preventivas deben desarrollarse en la CM que conlleven una mejoría en la calidad asistencial dispensada a las personas con diabetes con objeto de optimizar su nivel de HbA1c, un control de una forma más eficiente de la tensión arterial, y una disminución de la obesidad y distribución central de la grasa corporal, y lograr el abandono del consumo de tabaco. El Programa de Diabetes de la CM ha resultado eficaz para conocer cuál es la situación actual de las personas con diabetes en la CM y recomendar líneas de actuación que deben de considerarse prioritarias a la hora de realizar la planificación sanitaria de las personas con diabetes de la CM.

Apéndice 1

	Responsable		
CS «El Torito»	Montse Juárez Moreno	CS «Las Águilas»	José Ramón Carravilla
CS «Ibiza»	M ^a Dolores Gómez	CS «Miguel Servet»	Santiago González Cacho
CS «Julia Mediavilla»	Isabel López Alonso	C ^o «Federico G ^a Lorca»	Félix Millán
EAP «Vicente Soldevilla»	Emilio Guardiola	CS «M ^a Jesús H. Cuéllar»	Maite Rollán
CS «Buenos Aires»	Paloma González	CS «Palomares»	M ^a Luisa Álvaro
CS «Federica Montseny»	Pedro Pablo Gaitero	Amb. «Los Pedroches»	Julio Sánchez Salvador
CS «Villa de Valdecas»	Yolanda Hernando	C ^o «Los Pedroches» Cupo	Julio Sánchez Salvador
CA «Jaime Vera»	Manuela García Cebrián	CS «María Curie»	Juan Antonio Pérez
CS «Goya I»	Ana López Burillo	CS «Castilla la Nueva»	Inmaculada López Rodríguez
CS «Goya II»	Enrique Gómez López	CS «Griñón»	Olga Cornejo
CS «Montesa»	Milagros Gómez Béjar	CS «Pintores»	Nuria Peñas Pascual
CS «Príncipe de Vergara»	Trinidad Martín Torcuato	CS «Sánchez Morate»	Samuel Borregón Carretero
CS «Ramiro II (Prta. Madrid)	M ^a Teresa Ostale	CS «Embajadores II»	Miguel Riera Pastor
Amb. «Virgen del Val»	Víctor López Castejón	CS «San Andrés I»	Rosario Serrano Martín
Amb. «El Juncal»	Aurelio Sáez Gutiérrez	CS «El Espinillo»	M ^a Luisa Sánchez Ludeña
CS «Brújula II»	Miguel Ángel López	CS «S. Isidro II»	Vicente del Sanz Moreno
CS «Daroca II»	Herve Valdivia	CS «Las Calesas»	Jaime Antona Casado
C ^o «Vital Aza»	Aurora Díez	CS «Almendrales»	Enrique Pereda Arregui
C ^o «Avda. de Aragón»	M ^a Luisa Romero Molina	Amb. «Orcasitas»	Virginia Lasso Oria
C ^o «Virgen de África»	Elvira Álvarez	CS «Rafael Alberti»	Osman Alkerdi
C ^a «Miguel Yuste»	Paloma Pumar Sainz	CS «Monovar»	Natividad Gamarra
CS «Canillas II»	Esther García	CS «Fuentelarreina»	M ^a Teresa Blanco Canales
CS «Paules II»	Tomás Goleros Recuero	CS «Chopera I»	Luis García Olmos
CS «La Chopera II»	Luis M ^a Zorita-Viota	CS «M ^a Auxiliadora»	Adela Rodríguez
CS «Miraflores Cupo»	José Luis Olavarría	CS «Guzmán el Bueno»	Ascensión Alonso
CS «Miraflores EAP»	José Antonio Díez	CS «Esproceda»	M ^a Dolores San Román
CS «El Molar» (Rural)	Carmen Borrachero Sánchez	CS «Mendiguchía Carriche»	Miguel Ángel Barajas
CS «Buitrago» (Canencia)	Blanca Zancada Martínez	CS «San Cristóbal»	Soledad Martín Fresneda
CS «Colmenar Viejo»	Ángel Sobriet Velasco	CS «Prosperidad»	Andrés Castillejo
C ^o «Soto del Real» (Rural)	M ^a Florentina Martín Rodríguez		
CS «General Moscardó»	Paco Camareles	Área	Coordinador
Amb. «José Marvía»	M ^a Paz Corredera Guillén	I	M ^a Jesús Calvo
CS «Monforte de Lemos»	Elena López de la Fuente	II	José L. García Mas
CS «Cond. de Barcelona»	Manuel García del Valle	III	Raquel Martínez
CS «Pozuelo II»	Jorge Zapata Vera	IV	Honorato Ortiz
CS «Pozuelo I»	Benjamín Ibarrola Muñoz	V	Natalia Ramos
CS «Segovia»	Cristina Cisneros	VI	Fernando Caballero
CS «Tribulete»	Armando Vega	VII	Ricardo Rodríguez de Ardana
CS «Pascual Rodríguez»	Lourdes Fdz. Alonso	VIII	Cruz Ayube
CS «Cisneros»	Celia Silva	IX	Alberto López
CS «Maqueda»	Ángel Molino	X	Maribel Fernández
C ^o «Illescas»	Isabel Guerrero	XI	Ángel Sanz

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Calle Pascual AL, Vicente A, Martín Álvarez PJ, Yuste E, de Matías J, Calle JR, Sánchez R. Estimation of the prevalence of diabetes mellitus diagnosed, and incidence of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in the Avila Health Care region of Spain. *Diab Res Clin Pract* 1993; **19**: 75-81.
- 2 Bayo J, García F, Latorre PM, Vázquez JA. Prevalencia de la diabetes mellitus no dependiente de la insulina en Lejona (Vizcaya). *Med Clin* 1993; **101**: 609-612.
- 3 Tamayo B, Faure E, Roche MJ, Rubio E, Sánchez E, Sanvador JA. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in Aragón, Spain. *Diabetes Care* 1997; **20**: 534-536.
- 4 Durán M, Martínez MA, Rubio JA, Maraños JP, Calle Pascual AL. Amputaciones de miembros inferiores en personas con y sin diabetes mellitus en Madrid 1989-1993. *Av Diabetol* 1995; **10**: 41-46.
- 5 Calle Pascual AL, Redondo MJ, Ballesteros M, Martínez Salinas MA, Díaz JA, de Matías P, Calle JR, Gil E, Jimenez M, Serrano FJ, Marín Alvarez PJ, Maraños PJ. Nontraumatic lower extremity amputations in diabetic and non-diabetic subjects in Madrid, Spain. *Diabetes Metabolism* 1997; **23**: 519-523.
- 6 Fernández Vigo J, Sánchez J, Castro J. The prevalence of diabetic retinopathy in Northwest of Spain. an epidemiologic study of diabetic retinopathy in Galicia. *Acta Ophthalmol* 1993; **91**: 22-26.
- 7 Hernández G, Macarro A, Fernández Perianes J, Fernández Vigo J. Prevalencia de retinopatía diabética en Extremadura. *Av Diabetol* 1996; **12**: 165-171.
- 8 Ugarte E, Goicolea I, Mancha AI, García Y, Pérez B, Vázquez JA. Prevalencia de retinopatía diabética en un área sanitaria del norte de España (Vizcaya). *Av Diabetol* 1996; **12**: 203-208.
- 9 Estmatjes E, Castell C, González T, Tresserras R, Lloveras G, The Catalan Nephropathy Study Group. Epidemiology of renal involvement in type II diabetics (NIDDM) in Catalonia. *Diab Res Clin Pract* 1996; **32**: 157-163.
- 10 Esmatjes E, Goicolea I, Cacho L, de Pablos P, Rodríguez MR, Roche MJ, Albero R, Benito P, Pesquera C, Grupo de Trabajo de Nefropatía Diabética, SED. Nefropatía en la diabetes tipo II: Prevalencia en España. *Av Diabetol* 1997; 29-35.
- 11 Grupo de la Sociedad de Endocrinología Nutrición y Diabetes de la CAM para el estudio de la disfunción eréctil. Estimación de la prevalencia de disfunción eréctil en el varón con diabetes mellitus en la Comunidad Autónoma de Madrid. *Av Diabetol* 1997; **13**: 80-85
- 12 American Diabetes Association Position Statement. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 1998; **21** (Supl 1): s50-s53.
- 13 Stiegler H, Standl E, Schultz K, Roth R, Lehman W. Morbidity, mortality and albuminuria in type 2 diabetic patients: a three-year prospective study of a random cohort in general practice. *Diabetic Medicine* 1992; **9**: 646-653.
- 14 Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity onset diabetes. *N Engl J Med* 1984; **310**: 356-360
- 15 Jarret RJ, Viberti GC, Agyropoulos A. Microalbuminuria predicts mortality in non-insulin-dependent diabetes. *Diabetic Medicine* 1984; **1**: 17-19.
- 16 Allawi J, Jarret RJ. Microalbuminuria and cardiovascular risk factors of type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 1990; **7**: 115-118.
- 17 Mogensen CE, Vigstrup J, Ehlers N. Microalbuminuria predicts proliferative diabetic retinopathy. *Lancet* 1985; **i**: 1512-1513.
- 18 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.
- 19 Figuerola D, Recasens A, Castell C, Lloveras G, y GCED. La asistencia al diabético en Cataluña. Estudio en una muestra de población. *Med Clin* 1992; **99**: 90-95.
- 20 Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: Estimates and projections to the year 2010. *Diabetic Medicine* 1997; **14**(Supl 5): s7-s85.
- 21 Cohen D, Neil H, Thorogood M, Mann J. A population-based study of the incidence of complications and hypertension associated with type 2 diabetes in the elderly. *Diabetic Medicine* 1991; **8**: 928-933.
- 22 Mogensen CE, Keane WF, Bennett PH, Jerums G, Parving H-H, Passa P, Steffes MW, Striker GE, Viberti Gc. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. *Lancet* 1995; **346**: 1080-1084.
- 23 American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1998; **21**(Supl 1): s23-s31.
- 24 Alberti KGMM, Gries FA, Jervell J, Kraus HMJ for the European NIDDM Policy Group: A desktop guide for the management of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM): An update. *Diabetic Medicine* 1994; **11**: 899-909.
- 25 DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerosis cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991; **14**: 173-194
- 26 Ostlund RE, Staten M, Kohrt WM, Schultz J, Malley M. the ratio of waist-to-hip circumference, plasma insulin level, and glucose intolerance as independent predictors of HDL2 cholesterol level in older adults. *N Engl J Med* 1990; **322**: 229-234.
- 27 Zimmet P. Non-insulin dependent (type 2) diabetes mellitus. Does it really exist? *Diabetic Medicine* 1989; **6**: 728-735.
- 28 Hales CN, Barker DJP, Clark PMS, Cox LJ,

- Fall C, Osmond C, Winter PD. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *Br Med J* 1991; **303**: 1019-1022.
- 29 Calle Pascual AL, Saavedra A, Benedi A, García Honduvilla J, Martín Álvarez PJ, Munguira ME, Calle JR, Marañes JP. Influence of diet composition on insulin sensitivity and cardiovascular risk factors in obese subjects from a mediterranean area. *Av Diabetol* 1994; **8**: 107-116.
- 30 Calle Pascual AL, Saavedra A, Benedi A, Martín Álvarez PJ, García Honduvilla J, Calle JR, Marañes JP. Changes in nutritional pattern, insulin sensitivity and glucose tolerance during weight loss in obese patients from a mediterranean area. *Horm Metab Res* 1995; **27**: 499-502.
- 31 Calle Pascual AL, Martín Álvarez PJ, Reyes C, Calle JR. Regular physical activity and reduced occurrence of microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metabolism* 1993; **19**: 304-309.
- 32 León E, Benedi A, Calle Pascual AL. Eficacia de los programas conductuales para mantener a largo plazo la pérdida de peso de personas obesas con diabetes tipo 2. *Endocrinología* 1998 (en prensa).
- 33 Barrett-Connor E, Khaw KT. Cigarette smoking and increased central adiposity. *Ann Int Med* 1989; **111**: 783-787.
- 34 Shimokata H, Muller DC, Andres R. Studies in the distribution of body fat. Effects of cigarette smoking. *JAMA* 1989; **261**: 1169-1173.

Complicaciones vasculares en la diabetes mellitus tipo 1: Estudio de prevalencia e incidencia en un área sanitaria.

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

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

Aceptado: Octubre 1998.

RESUMEN: La morbimortalidad por las complicaciones macrovasculares es importante en la diabetes mellitus, tanto tipo 1 como 2. Se estudia la prevalencia e incidencia de estas complicaciones en la diabetes tipo 1 en un área sanitaria tras dos años de seguimiento. De los 590 pacientes encuestados, 49 pacientes tenían una o más complicaciones macrovasculares de la diabetes (8,3%). Once pacientes (1,9%) presentaban historia previa de accidentes cerebrovasculares (ACV), 10 pacientes (1,7%) de infartos de miocardio y 2 pacientes (0,3%) de amputaciones mayores. Presentaban historia previa de claudicación intermitente, 24 pacientes (4,2%); 3 pacientes, úlceras en pies (1,8%) y ausencia de pulsos periféricos 14 pacientes (8,2%). Presentaban clínica de angor 13 pacientes (2,3%) y 38 pacientes (25,8%) de polineuropatía sensitiva. La prevalencia de complicaciones macrovasculares aumentaba con la duración de la diabetes ($p = 0,0003$).

Incidencia de macroangiopatía: durante los 2 años de observación no se registraron casos de amputaciones mayores. Se observaron dos casos de infarto de miocardio y 5 episodios de vasculopatía, lo que da una incidencia de macroangiopatía de 12 casos por 1.000 pacientes y año, (3,2 episodios de infarto y 8,4 episodios de vasculopatía cerebral por 1.000 pacientes y año). Se observó una asociación significativa entre padecer síntomas menores y mayores de macroangiopatía, $OR = 31$ (10,6-94), $p = 0,0001$. Los pacientes diabéticos con macroangiopatía tenían mayor excreción de albúmina ($p = 0,0001$) y mayores tensiones, tanto sistólicas ($p = 0,0001$), como diastólicas ($p = 0,0001$) que los diabéticos sin signos de macroangiopatía.

PALABRAS CLAVE: Infarto de miocardio; Enfermedad coronaria; Vasculopatía periférica; Amputaciones; Úlcera diabética.

ABSTRACT: For diabetes mortality, macrovascular complications are important. The incidence and prevalence of these complications in type 1 diabetics in a health area during a two years period are studied. From a pool of 590 type 1 diabetic patients, 49 have one or more macrovascular complications (8.3%). 11 patients (1.9%) have had stroke, 10 (1.7%) acute myocardial infarction (MI) and 2 (0.3%) mayor lower extremity amputations (LEAD). Clinical peripheral arterial disease was present in 24 (4.2%), foot ulcers in 3 patients, (1.8%) and absent foot pulses in 14 patients (8.2%). Coronary ischaemic heart disease was present in 13 patients (2.3%) and 38 (25.8%) have sensitive peripheral polineuropathy. Macrovascular complications increased with longer diabetes duration in type 1 diabetes ($p = 0.0003$). The incidence of macroangiopathy in two years was 12 cases per 1,000 patients and year; No new cases of LEAD, 2 new cases of MI (3.2 cases for 1,000 patients and year) and 5 episodes of cerebrovascular disease (8.4 cases for 1,000 patients/year). A significant association was found between minor and maior macrovascular symptoms, $OR = 31$ (10.6-94), $p = 0.0001$. Patients with any sign of macroangiopathy have a increased albumin excretion rate and a higher systolic and diastolic blood pressure ($p = 0.0001$) than diabetic patients without macroangiopathy.

KEY WORDS: Myocardial infarction; Ischaemic heart disease; Peripheral arterial disease; Diabetic foot ulcers; Amputations.

INTRODUCCIÓN

Las complicaciones cardiovasculares son las causas más importantes de mortalidad, tanto en la diabetes tipo 1 como en la tipo 2. La diabetes está presente como diagnóstico principal o secundario en gran número de fallecimientos y, por lo tanto, es considera-

da ya la 7ª causa de muerte en los Estados Unidos⁽¹⁾. Las personas diabéticas tienen un riesgo entre 2 y 4 veces mayor de desarrollar complicaciones cardiovasculares y morir a causa de ellas que las personas no diabéticas⁽²⁾. La enfermedad macrovascular coronaria es la primera causa de muerte en los diabéticos, alcanzando el 50% por

sí sola, mientras que la enfermedad vascular periférica es 4 a 6 veces más frecuente⁽³⁾ que en los no diabéticos. La hiperglucemia, la hiperlipemia y la resistencia insulínica son reconocidos como factores de riesgo⁽⁴⁾ para desarrollar la alteración macrovascular. En el presente estudio, se pretende conocer: 1. La prevalencia de la afectación macro angiopática en una amplia población diabética atendida en un área sanitaria, además de los factores de riesgo asociados con su aparición. 2. La incidencia de aparición de los diversos aspectos de la enfermedad macrovascular tras el período de estudio, 2 años.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudian 590 pacientes diabéticos tipo 1 (54% varones) que acudieron a las consultas de Endocrinología dependientes del área sanitaria del Hospital de Cruces (Vizcaya). Esta área comprende una población de 380.000 habitantes con un hospital de referencia, otro hospital comarcal y cuatro áreas sanitarias con las correspondientes consultas de Endocrinología. En la recogida de datos participaron nueve endocrinólogos y tres residentes de la misma especialidad.

A todos los pacientes se les completó un cuestionario de prevalencia de complicaciones crónicas de la diabetes, así como del control metabólico denominado «Diabcare». Se realizaron dos cortes transversales para tomas de muestras de prevalencia: un corte en el año 1995 y otro en 1997 para verificar, por una parte, la existencia de complicaciones micro y macrovasculares, así

como la calidad de la atención diabéto-lógica.

Se recogieron la presencia de diversos aspectos clínicos de la macroangiopatía diabética, para conocer la prevalencia de complicaciones macrovasculares mayores: 1º. Historia de angina o infarto de miocardio evidenciada por ingreso hospitalario y/o informe de cardiólogo como dato de cardiopatía isquémica. 2º. Historia de accidente cerebrovascular transitorio o definitivo (ACV) evidenciado por ingreso hospitalario y/o informe de neurólogo. 3º Historia de amputaciones, úlceras o "bypass" en extremidades inferiores. De la historia clínica se recogió la presencia de complicaciones macrovasculares menores, como síntomas de angina de pecho, claudicación intermitente, calambres y hormigueos, así como de signos sobre la presencia o no de pulsos pedios y tibiales, del estado de la sensibilidad vibratoria y de las ulceraciones. De la exploración clínica anual se recogió el peso, la talla, la tensión arterial tras 5 minutos de reposo, y las determinaciones analíticas sobre lípidos plasmáticos y hemoglobina glicada (HbA1c).

Asimismo, se recogió en la última revisión del año 1997 la aparición en el año previo de cualquiera de estas complicaciones, para calcular la incidencia de estas complicaciones. Se registraron también variables demográficas, como año de nacimiento, edad de aparición de la diabetes, años de evolución, tipo de tratamiento y hábitos tóxicos (tabaco e ingesta de alcohol).

Se procesaron los datos con el programa EPI-Info 6, presentándose los resultados como media \pm desviación

estándar (\pm SD). Se calculó el riesgo relativo (RR) o el Odds Ratio (OR) según fuera apropiado, expresándose con un índice de confianza (IC) del 95%. Se compararon los resultados por el test del Chi² para las variables cualitativas, el test de Mantel-Haenzel si las variables estaban estratificadas y el test de Kruskal-Wallis cuando se compararon con las variables cuantitativas. Se empleó el análisis de regresión logística sólo con aquellas variables significativas en el análisis univariante.

RESULTADOS

Prevalencia de macroangiopatía. De los 590 pacientes encuestados, 20 pacientes tenían una o más complicaciones macrovasculares mayores de la diabetes (3,4%). Once pacientes (1,9%) presentaban historia previa de ACV, 10 pacientes (1,7%) de infartos de miocardio y dos (0,3%) de amputaciones mayores. La prevalencia de otras complicaciones macrovasculares menores se detalla en la tabla I.

La suma de complicaciones mayores y menores de la macroangiopatía en la diabetes tipo 1 afectaba a un total de 49 pacientes, un 8,3% del grupo. En tratamiento antihipertensivo se encontraban 151 pacientes (25% de los casos). La prevalencia de complicaciones macrovasculares aumentaba con la duración de la diabetes del tipo 1 ($p = 0,0003$) (Fig. 1). Estratificándolo por sexo, no había diferencias en la prevalencia de macroangiopatía en el tipo 1 ($p = 0,06$).

Incidencia de macroangiopatía. Durante los 2 años de observación se

TABLA I PREVALENCIA DE LAS COMPLICACIONES MACROVASCULARES MENORES

Complicaciones macrovasculares menores	n	%
Angor	13	2,3%
Ausencia de pulsos pedios	14	8,2%
Claudicación intermitente	24	4,2%
Ulceras actuales	3	1,8%
Total	38	6,4%

N: número de pacientes afectados; %: Porcentaje de casos.

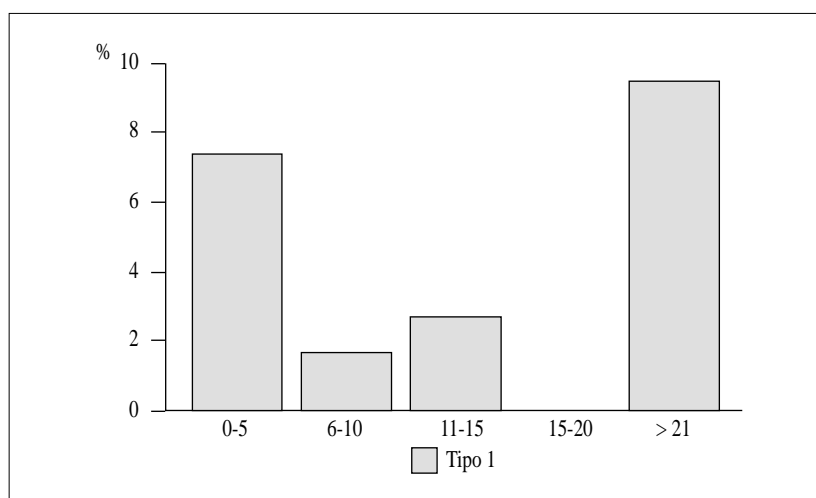


Figura 1. Evolución de la prevalencia de macroangiopatía con los años de evolución. En abscisas: Años de evolución por quinquenios. En ordenadas: Porcentaje de casos de macroangiopatía.

registraron siete casos de macroangiopatía, ninguna amputación, dos infartos agudos de miocardio (0,4%) y cinco casos de accidente cerebrovascular (0,9%), lo que supone una incidencia de macroangiopatía de 12 casos por 1.000 pacientes y año, (3,2 episodios de infarto y 8,4 episodios de vasculopatía cerebral por 1.000 pacientes y año).

Factores asociados a la aparición de macroangiopatía. Los pacientes con algún episodio mayor de macroangiopatía en el último año presentaban mayor edad (46 ± 22 vs 33 ± 12 años) y tiempo de evolución (20 ± 16 vs 16

± 10) que los pacientes no afectados de macroangiopatía, pero no de forma significativa ($p = 0,18$). Tampoco había predominio de ningún sexo.

No había diferencias en cuanto al control metabólico, de la tensión arterial ni lipídico entre los pacientes con historia de macroangiopatía en el último año y los diabéticos con historia previa de macroangiopatía (Tabla II).

Los pacientes con historia previa de un episodio mayor de macroangiopatía tenían riesgo mayor de tener otro episodio mayor de macroangiopatía (RR = 1,24 (1,00-1,55), $p = 0,0001$).

Los pacientes con datos menores

de macroangiopatía (angor, claudicación, etc.) tenían mayor edad y tiempo de evolución que los pacientes sin macroangiopatía ($p = 0,01$) (Tabla III).

Los pacientes con algún dato mayor de macroangiopatía (bien reciente, bien previo o con síntomas menores) tenían mayor excreción de albúmina ($p = 0,0001$) y mayores cifras tensionales tanto sistólicas ($p = 0,0001$), como diastólicas ($p = 0,0001$) que los que no tenían datos de macroangiopatía, no encontrándose diferencias en el control metabólico o lipídico.

La presencia de síntomas menores de macroangiopatía no conllevaba un mayor riesgo de padecer un episodio mayor del mismo en el último año, RR = 1,09 (0,81-1,48), $p = 0,37$. Sin embargo, había una asociación significativa entre padecer síntomas menores y mayores, OR = 31 (10,6-94), $p = 0,0001$.

La presencia de polineuropatía diabética estaba asociada a una mayor presencia de síntomas menores y mayores de macroangiopatía OR = 8,83 (4,5-17,24), $p = 0,0001$. En el análisis de regresión logística, sólo la tensión arterial sistólica ($p = 0,0001$) y la excreción de albúmina ($p = 0,0013$) estaban asociadas a la macroangiopatía en todas sus formas, perdiendo significación tanto la edad, como los años de evolución ($p = 0,13$).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, se muestran los datos de prevalencia de la enfermedad macroangiopática en una población de diabetes tipo 1 en nuestra área,

TABLA II FACTORES DE RIESGO EN LOS PACIENTES DIABÉTICOS CON UN EPISODIO MAYOR DE MACROANGIOPATÍA EN EL ÚLTIMO AÑO Y PACIENTES CON HISTORIA PREVIA DE MACROANGIOPATÍA

	<i>Macroangiopatía en el último año</i>	<i>Historia previa macroangiopatía</i>	<i>p</i>
TAD	78 ± 8	79 ± 13	NS
TAS	154 ± 23	152 ± 19	NS
Albu. mg/24 h	1.615 ± 2.476	1.715 ± 2.643	NS
Coles.	198 ± 40	211 ± 45	NS
TG	133 ± 62	136 ± 89	NS
HDL	59 ± 16	53 ± 16	NS
HbA1c último año	7,3 ± 1,2%	7,8 ± 1,5	NS
HbA1c previo	8,8 ± 0,9%	8,9 ± 2,2%	NS
Edad	46 ± 22	46 ± 18	NS
Evol	20 ± 16	25 ± 16	NS

Macro último año: Pacientes con episodios mayores de macroangiopatía en el último año. HIA previa de macro: Pacientes con historia previa de episodios mayores de macroangiopatía. TAS: Tensión arterial sistólica en mmHg. TAD: Tensión arterial diastólica en mmHg. Albu.: Excreción de albúmina en orina de 24 horas en mg/24h. Coles.: Colesterol en plasma en mg/dl. TG: Triglicéridos en plasma en mg/dl. HDL: Colesterol de alta densidad en mg/dl. HbA1c: Hemoglobina glicada antes del estudio en %. HbA1c último año: Hemoglobina glicada tras el estudio en %. Evol: Años de evolución de la diabetes.

TABLA III FACTORES DE RIESGO EN LOS PACIENTES DIABÉTICOS CON UN EPISODIO MENOR DE MACROANGIOPATÍA Y PACIENTES SIN HISTORIA PREVIA DE MACROANGIOPATÍA.

<i>Síntomas menores macro</i>	<i>No de macroangiopatía</i>	<i>Datos de p</i>	
76 ± 9,7	71 ± 10	0,0001	TAD
144 ± 18	125 ± 18	0,0015	TAS
1.341 ± 2.244	66 ± 542	0,0001	Albu. mg/24 h
218 ± 39	211 ± 46	0,39	Coles
129 ± 91	136 ± 88	0,14	TG
58 ± 12	53 ± 16	0,29	HDL
42 ± 16	33 ± 11	0,0002	Edad
22 ± 14	15 ± 9	0,003	Evol

Síntomas menores de macro: Pacientes con historia previa de episodios menores de macroangiopatía. No datos de macro: Pacientes sin historia de macroangiopatía. TAS: Tensión arterial sistólica en mmHg. TAD: Tensión arterial diastólica en mmHg. Albu.: Excreción de albúmina en orina de 24 horas en mg/24h. Coles.: Colesterol en plasma en mg/dl. TG: Triglicéridos en plasma en mg/dl. HDL: Colesterol de alta densidad en mg/dl. Evol.: Años de evolución de la diabetes.

con un 8,3% de los pacientes afectados. De éstos, un 3,4% presentan episodios mayores de enfermedad cardiovascular (1,9% con ACV, un 1,7% con AM y un 0,3% con amputaciones) y un 6,4% con episodios menores (angor un 2,3%, claudicación un 4,2% y ausencia de pulsos tibiales un 8,2). Es destacable que aunque la macroangiopatía afecta al 8,3% de los individuos diabéticos, en muchos la afección es múltiple, con varias manifestaciones diferentes en el mismo sujeto.

Tradicionalmente la enfermedad coronaria representa la causa más frecuente de muerte en la diabetes. Existe para los diabéticos un exceso de riesgo de padecer coronariopatía y sobre todo, en el grupo de mujeres⁽⁵⁾. Este riesgo aumentado produce, tanto una mayor incidencia de casos tales de cardiopatía isquémica, como de infartos de miocardio no fatales⁽⁶⁾.

Sin embargo, en la diabetes tipo 1, Knowles, tras 16 años de seguimiento, no encuentra casos de infarto de miocardio en su estudio⁽⁷⁾, mientras que Donahue tras 16 años lo cifra en un 4%⁽²⁾. Estos estudios, como el nuestro, con tan baja prevalencia e incidencia, debido a la juventud de los pacientes con diabetes tipo 1, subestiman la verdadera frecuencia, ya que al ser un proceso arterial oclusivo y progresivo, la diabetes no causa la enfermedad coronaria tan rápidamente. En el estudio de la clínica, Steno, con seguimiento muy amplio, a 40 años, sitúa la prevalencia de infarto de miocardio en un 16%⁽⁸⁾.

La segunda causa de muerte por orden de frecuencia es la enfermedad cerebrovascular en relación con una hipertensión coexistente. La prevalen-

cia de hipertensión se ha estimado por Gil Extremera⁽⁹⁾ en un 9,1% de los diabéticos tipo 1. Mientras que en no diabéticos, un 15% de las muertes por cualquier causa se debe al ACV, en los diabéticos, el riesgo aumenta por 2 ó 4⁽¹⁰⁾. La prevalencia encontrada de ACV es del 1,9%, inferior a la encontrada por la National Health Service en 1989 del 9,3%⁽¹¹⁾. Nuestra tasa de incidencia de ACV, 8,2 casos por 1.000 pacientes año, es inferior a la casuística americana del estudio de Framingham⁽¹²⁾, entre 14-16 casos (2,8-3,5 casos por 100 en 2 años).

La tasa de amputaciones de extremidades inferiores entre los diabéticos de USA se sitúa entre 6 y 8 casos por 1.000 pacientes/año⁽¹³⁾, en Inglaterra alcanza entre las 8 y las 10 amputaciones por 1.000 pacientes año^(14, 15), muy inferior a nuestra tasa, si bien estos datos son para el conjunto de diabéticos, con predominio del tipo 2. Entre los nativos indios USA fundamentalmente con diabetes tipo 2, la tasa de amputaciones sube hasta 20-24 casos por 1.000 pacientes año⁽¹⁶⁾ con una prevalencia del 4%⁽¹⁷⁾. La prevalencia de amputaciones del 9% en el estudio EDC⁽¹⁸⁾ es muy superior a la del nuestro del 0,5%, aunque la de enfermedad coronaria sea muy similar. Sin embargo, en este estudio, al cabo de 10 años, sólo se describen en diabetes tipo 1 cuatro casos de amputaciones frente a ninguno en nuestro estudio en dos años, a pesar de una población de similar edad y duración de la diabetes.

La prevalencia de enfermedad vascular periférica tomada de forma sintomática clínica es del 4,2% subiendo en la exploración al 8,2% por la ausencia de pulsos. Otros autores

encuentran cifras de prevalencia similares, bien por el mismo método, ausencia de pulsos, 13%⁽¹⁷⁾ o por medios más sofisticados, Doppler, 16%⁽²⁰⁾ y por el contrario, prevalencias más bajas, del orden del 4,6%, usando como criterio para el diagnóstico de enfermedad vascular periférica, el cociente de tensión brazo/tobillo⁽¹⁸⁾.

Mientras que la enfermedad cardiovascular se ha asociado, tanto con la duración de la diabetes, con la hipertensión diastólica, sexo masculino, tabaco y la hiperlipemia⁽²¹⁾, en nuestro estudio en el análisis univariante, salvo los años de enfermedad, la excreción urinaria de albúmina y la tensión arterial sistólica y diastólica, no encontramos otro factor patogénico común asociado. No encontramos relación con la hipercolesterolemia ni con el control metabólico. En el análisis multivariante, sólo la tensión sistólica y la albuminuria se asocian significativamente a los diversos aspectos de la macroangiopatía.

En resumen, la prevalencia de enfermedad cardiovascular alcanza el 8,3% de la población diabética, con una serie de factores de riesgo, como son la edad, el tiempo de evolución, la tensión arterial sistólica y la excreción de albúmina.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Pyorala K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. *Diabetes Metab Rev* 1997;3:463-524.
- 2 Donahue R, Orchard T. Diabetes mellitus and macrovascular complications: an epidemiological perspective. *Diabetes Care* 1992;15:1141-1155.
- 3 Criqui MH, Langer RN, Fronek A, Feigelson HS, Klauber MIL, McCann TJ, Browner D. Mortality over a period of 10 years in patients with peripheral arterial disease. *N Engl J Med* 1992;326:381-386.
- 4 Caprio S, Wog S, Alberti K, King G. Cardiovascular complications of diabetes. *Diabetologia* 1997;40(Suppl 3):B78-82.
- 5 Kannel WB, MacGee DL. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care* 1979;2:120-126.
- 6 Fuller JH. Causes of death in diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 1985;15(Suppl):3-9.
- 7 Knowles HC. Long term juvenile diabetes mellitus and unmeasured diet. Proceedings 7th Congress International Diabetes Foundation. 1970; 209-215.
- 8 Deckert T, Poulsen JE, Larsen M. Prognosis of diabetic with diabetes onset before the age of thirty one. *Diabetologia* 1978;14:363-370.
- 9 Gil Extremera B, Miralles García M, Luna del Castillo J. Hipertensión arterial y diabetes. Incidencia de enfermedad macroangiopática en 532 pacientes. *An Med Int* 1989;6:614-618.
- 10 Panzram G. Epidemiologic data on excess mortality and life expectancy in insulin dependent diabetes mellitus: critical review. *Exp Clin Endocrinol* 1984;83:93-100.
- 11 National Center for Health Statistics: Current estimates from the National Health Interview Survey 1990. Vitaland Health Statistics, 1991. Series 10, n° 181.
- 12 Abbott RD, Brand FN, Kannel WB. Epidemiology of some peripheral arterial findings in diabetic men and women. Experiences from the Framingham study. *Am J Med* 1990; 88:376-381.
- 13 Most R, Sinnock P. The epidemiology of lower amputations in diabetic individual. *Diabetes Care* 1983;6:87-92.
- 14 Neil H, Thompson AV, Thorogood M. Diabetes in the elderly: The Oxford community diabetes study. *Diabet Med* 1989;6:608-613.
- 15 Wauh NR. Amputations in diabetic patients:

- a review of rates relative risks and resource use. *Community Med* 1988;**10**:279-288.
- 16 Valway S, Linkins R, Gohdes D. Epidemiology of lower extremity amputations in the indians Health Service. *Diabetes Care* 1993;**16**(Suppl 1):349-352.
- 17 Freeman W, Hosey G. Diabetic complications among american indians of Washington, Oregon and Idaho. *Diabetes Care* 1993;**16**(Suppl 1):357-360.
- 18 Orchar TJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Eilis D y cols. Factors associated with avoidance of severe complications after 25 year of IDDM. Pittsburgh epidemiology of diabetes complications study. *Diabetes Care* 1990;**13**:741-747.
- 19 Klimt CR, Knatterud GL, Meinert CL, Prout TE. A study of the effects of hypoglycemic agents on vascular complications in patients with adult onset diabetes. 1. Design, methods and baseline results. *Diabetes* 1970;**19**:747-783.
- 20 Janka HU, Standl E, Mehnert H. Peripberal vascular disease in diabetes mellitus and its relation to cardiovascular risk factors. Screening with the doppler ultrasonic technique. *Diabetes Care* 1980;**3**:207-213.
- 21 Savage S, Stacio R, Jeffers B, Schrier R. Urinary albumin excretion as a predictor of diabetic retiopathy, neuropathy and cardiovascular disease in NIDDM. *Diabetes Care* 1996;**19**:1243-1248.

Factores asociados a la aparición de retinopatía diabética: Efectos del control metabólico

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

Servicio Endocrinología. Hospital de Cruces. Baracaldo.

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

Aceptado: Octubre 1998.

RESUMEN: La retinopatía diabética (RD) es una complicación crónica que afecta aproximadamente entre el 25 y el 33% de la población diabética y produce un gran deterioro en la calidad de vida del paciente. El presente estudio se realizó en una amplia población de diabéticos de ambos tipos y pretende estudiar los factores presentes en los pacientes que no teniendo RD lo hacen en el plazo de 2 años respecto a los que no lo hacen. De 1.116 pacientes evaluados permanecieron sin RD 933 pacientes (83,5%) y evolucionaron a RD 183 pacientes (16,5%). Esto supone una tasa media de RD de 82 casos por 1.000 pacientes año (68 casos del tipo 1 y 87 del tipo 2). En el análisis de regresión logística, ni el colesterol, ni la tensión arterial sistólica o diastólica aisladas, ni la edad, ni el tipo de diabetes, ni la albuminuria tenían significación estadística. Sólo la HbA1c media ($p = 0,0002$), junto a los años de evolución de la diabetes ($p = 0,002$) diferenciaba entre los que evolucionaban y los que no hacia la RD.

PALABRAS CLAVE: Retinopatía diabética; Control metabólico; Riesgo relativo; Incidencia retinopatía.

ABSTRACT: Diabetic retinopathy (DR) is a chronic complication affecting 25-33% of diabetic population giving a important deterioration of quality of life. After two years of follow-up of 1,116 diabetic patients without DR at baseline, we study the factors in the progression of microvascular diabetic retinopathy. 933 patients (83.5%) have not evolved to RD during the study and 183 patients (16.5%) suffered changes of DR. The rate of DR was 82 cases per 1,000 patients/year (68 cases per 1,000 patients/year in type 1 diabetes and 87 in type 2). In the logistic regression analysis, only the mean glycosylated hemoglobin (HbA1c) ($p = 0.0002$) and the years of diabetes ($p = 0.002$) were predictive for progression to DR. The others cardiovascular or metabolic factors studied (plasma cholesterol, the systolic or diastolic blood pressure, type of diabetes, patient age or albumin excretion rate) were not significantly associated in this model.

KEY WORDS: Diabetic retinopathy; Metabolic control; Relative risk; Incidence rate of retinopathy.

INTRODUCCIÓN

Tras el estudio DCCT⁽¹⁾ se ha demostrado que el tratamiento intensivo de insulina logra, a través de una mejora sustancial en la glucemia, una reducción de los riesgos de microangiopatía en los diabéticos insulino-dependientes.

Algunos autores como Kroleswki concluyen en la existencia de un umbral glucémico a partir del cual el riesgo de desarrollo de la microalbuminuria se incrementa significativamente (cuando la HbA1c media es mayor del 8,1%)⁽²⁾ o, según Brinchmann-Hansen, del 9% si nos referimos a la aparición de RD⁽³⁾. Otros no llegan a tales aseveraciones, sino que hay una continua disminución del riesgo relativo para

todas las complicaciones crónicas a medida que la glucemia es reducida de forma proporcional^(4,5). Si el fin del tratamiento es evitar todo tipo de retinopatía, incluso los mínimos microaneurismas, tal vez la normoglucesmia sea imprescindible⁽⁵⁾. Pero si lo que se quiere impedir son los grados más serios de RD o la retinopatía proliferativa, sí existe una barrera a partir de la cual se reducen grandemente los riesgos. Según el estudio de Estocolmo⁽⁶⁾ ambos riesgos disminuyen considerablemente manteniendo la HbA1c a largo plazo por debajo del 7%. El presente estudio se realizó a una amplia población de diabéticos de ambos tipos en el plazo de 2 años y pretende estudiar los factores presentes en los pacientes que no teniendo RD en un primer corte, sí lo

presentan en el segundo. El segundo objetivo es si existe o no un umbral glucémico para la RD y los diferentes riesgos a distintos grados de control metabólico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los años 1995 y 1997 se realizaron dos cortes transversales en la población diabética que acudió a las consultas de Endocrinología del área dependiente del Hospital de Cruces, un área de aproximadamente 400.000 habitantes. Existe una consulta central de Endocrinología en el Hospital y cuatro consultas satélites en las principales poblaciones del área. La asistencia está asegurada por un equipo de ocho especialistas y cuatro residentes en formación en la especialidad. Se aplicó para la recogida de datos, el formato informatizado del «Diabcare», extrayéndose los datos de las historias clínicas por un equipo independiente de tres personas. De forma resumida, se estudian en ambos cortes la prevalencia de complicaciones crónicas presentes, la aparición de nuevos eventos agudos y crónicos, además de los principales parámetros de control metabólico (HbA1c, tensión arterial, lípidos y excreción urinaria de albúmina). En el primer corte se estudiaron 3.646 fichas de pacientes diabéticos y 3.970 en el segundo.

La hemoglobina glicosilada HbA1c se determinaba mayoritariamente en un laboratorio central, por cromatografía en columna (valores normales $5 \pm 0,5\%$). Los realizados en otro centro se normalizaron a los valores del primero por una correlación.

Los lípidos plasmáticos (colesterol, triglicéridos y HDL-colesterol) se midían por los métodos enzimáticos automatizados habituales. La microalbuminuria era medida en la orina de 24 horas (de 7 a 7 horas) y procesado en el laboratorio central de Bioquímica por el método de inmunturbidimetría (Behring). La tensión arterial se determinaba en cada consulta y tras 5 minutos de reposo y se recogía la media de las determinaciones existentes en la historia clínica. Con las HbA1c existentes del año 95 y 97 se calcula la HbA1c media y con la tensión arterial sistólica y diastólica, la tensión media. La HbA1c media se dividió en cuartiles para el cálculo de los riesgos relativos entre los distintos estratos.

La evaluación oftalmológica se realizó por el oftalmólogo habitual por oftalmoscopia indirecta tras dilatación farmacológica previa. Ocasionalmente se realizó angiografía fluoresceíngrafía si era conveniente para otros fines, pero el estado de la retinopatía diabética se basó fundamentalmente del informe escrito anual del especialista. Se consideraron cuatro estadios habituales en la RD, no retinopatía, retinopatía no proliferativa (RNP), preproliferativa (RPP) y proliferativa (RP), pero sólo se computó a efectos del presente trabajo la no existencia de RD para la inclusión en el estudio y a los 2 años, la existencia o no de RD.

Los datos se procesan por el paquete estadístico EPI-info 6.0. Los datos se expresan como media y desviación estándar ($X \pm SD$). Para el análisis univariante, se emplea el χ^2 , calculándose el riesgo relativo, (RR) y el intervalo de confianza (IC) del 95% para las variables cualitativas. Si las variables

TABLA I CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL GRUPO ESTUDIADO

Edad	56 \pm 16 años
T. evolución	12,6 \pm 6 años
Tipo DM (1/2)	16,7%/83,3%
Sexo (varón)	50,5%
Colesterol	211 \pm 45 mg/dl
Triglicéridos	129 \pm 89 mg/dl
HDL-col.	54 \pm 16 mg/dl
Albuminuria	95 \pm 499 mg/24 h
TAS	139 \pm 22 mmHg
TAD	76 \pm 11 mmHg

han de estratificarse, se emplea el test de Mantel-Haenszel. En las variables cuantitativas se emplea el test de Kruskal-Wallis. Finalmente, se emplea, dentro del análisis multivariante, el análisis de regresión logística introduciendo el colesterol, los triglicéridos, la tensión arterial sistólica o diastólica aisladas, la tensión arterial media, la edad, el tipo de diabetes, la albuminuria, la HbA1c inicial y media, junto a los años de evolución de la diabetes.

RESULTADOS

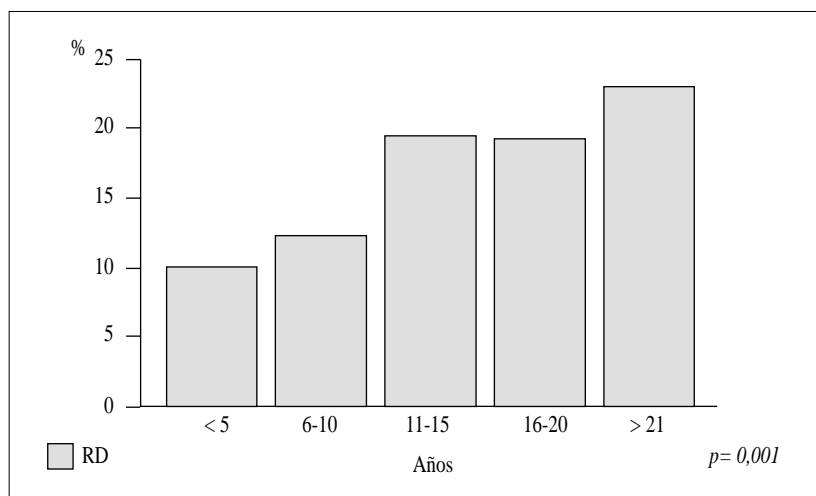
De los 1.825 pacientes sin RD en la 1ª evaluación del año 1995, se reevaluaron 1.116 en el año 97 (61%). Las características generales del grupo estudiado están descritas en la tabla I. Permanecieron sin RD 933 pacientes (83,5%) y evolucionaron a RD 183 pacientes (16,5%). Esto supone una tasa de 82 casos por 1.000 pacientes/año. Treinta y ocho pacientes con diabetes tipo 1 de un total de 280 iniciaron una RD (13,5%) lo que representa una tasa de 68 casos por 1.000 pacientes/año. Con diabetes tipo 2 evolucionaron 145 de 836 evaluados

TABLA II INFLUENCIA DE LA EDAD, TIEMPO DE EVOLUCIÓN, TIPO DE DIABETES Y SEXO EN LOS PACIENTES QUE PROGRESAN Y NO HACIA LA RETINOPATÍA DIABÉTICA (RD)

	<i>Progresan</i>	<i>No progresan</i>	<i>p</i>
Sexo (H)	50,5%	51,5%	0,78
Edad (años)	57 ± 15	53 ± 17	0,0015
Tiempo de evolución (años)	15 ± 6	12,8 ± 6	0,0001
Diabetes tipo 2	17,3%	82,7%	
Diabetes tipo 1	13,6%	86,4%	

TABLA III EVOLUCIÓN DE LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA Y DE LA ALBUMINURIA ENTRE LOS PACIENTES QUE PROGRESAN Y NO A RETINOPATÍA DIABÉTICA

	<i>Progresan</i>	<i>No progresan</i>	<i>p</i>
Albuminuria antes	92 ± 352 mg/24 h	80 ± 479 mg/24 h	0,031
Albuminuria después	90 ± 417 mg/24 h	59 ± 356 mg/24 h	0,0001
HbA1c antes	8,4 ± 1,8%	7,9 ± 1,7%	0,0001
HbA1c después	8,1 ± 1,6%	7,7 ± 1,6%	0,003

**Figura 1.** Influencia del tiempo de evolución de la diabetes en la aparición de retinopatía diabética (RD).

(17,3%), lo que da una tasa de 87 casos por 1.000 pacientes/año. En total, 175 pacientes diabéticos evolucionaron a RNP (15,7%), dos a RPP (0,2%) y seis a RP (0,5%).

No había diferencias por el sexo ni por el tipo de diabetes entre los que evolucionaban y los que no lo hacían la

RD; sin embargo, éstos tenían mayor edad y tiempo de evolución (Tabla II).

El tiempo de evolución influyó significativamente en el porcentaje de pacientes que evolucionaba en el tiempo de observación, 2 años, hacia la retinopatía (Fig. 1).

Ni el colesterol, ni la HDL-coles-

terol eran diferentes entre los que progresan y no, pero sí los triglicéridos, 153 ± 134 mg% vs 120 ± 72 (p = 0,02), así como, tanto la tensión arterial sistólica, como la diastólica, 143 ± 23 vs 138 ± 21 mmHg (p = 0,02) y 78 ± 10 vs 76 ± 11 mmHg (p = 0,01), respectivamente. Tanto la albuminuria del comienzo como la del final, así como la HbA1c, eran diferentes entre uno y otro grupo (Tabla III).

Estratificando por el tipo de diabetes, la tensión arterial, tanto sistólica, como diastólica era significativamente mayor (p = 0,03 y p = 0,005) en los diabéticos tipo 1 que progresan hacia RD respecto a los que no lo hacen, no hallándose significación en los diabéticos tipo 2. La HbA1c, al inicio, era mayor en los que progresan, tanto en el tipo 1 (p = 0,015), como en el tipo 2 (p = 0,001) pero al final, sólo en el tipo 2 (p = 0,004). Por el contrario, la albuminuria no era diferente al inicio, en ninguno de los dos grupos (p = 0,78 y p = 0,06, respectivamente) y sólo en el tipo 2, al final del estudio (p = 0,0001).

En función de la HbA1c media en el período estudiado, sólo un 9% de los que tenían una HbA1c media de 6% o inferior hacían RD, un 12% de los que tenían inferior a 8%, un 16% de los que tenían inferior a 10%. Los pacientes con HbA1c media superior al 10%, tenían una incidencia a los 2 años del 23% (Fig. 2).

Dividiendo a los pacientes por el nivel de HbA1c en cuartiles, los del cuartil 25, sólo 25 de 244 evolucionaron hacia la RD (un 10%), 39 de 295 (un 13%) del 2º cuartil, 59 de 291 (20%) del 3º y 58 de 257 (un 23%) del 4º cuartil o cuartil superior. El riesgo

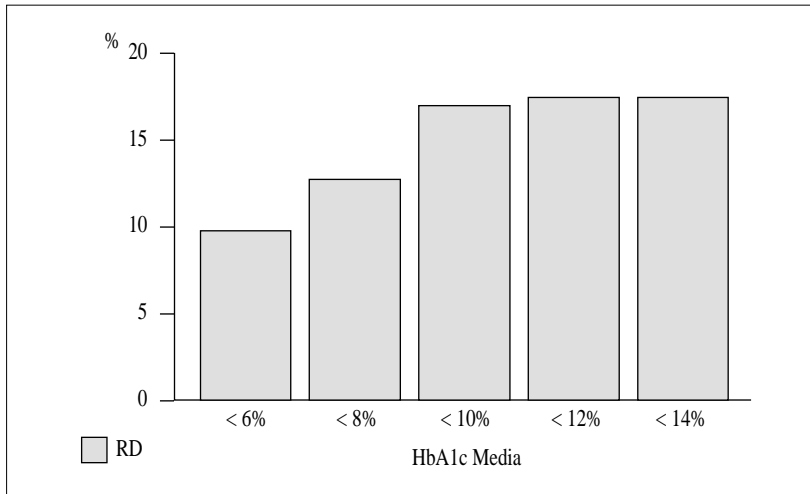


Figura 2. Influencia de la HbA1c media en la aparición de la retinopatía diabética (RD).

TABLA IV ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LOS FACTORES ASOCIADOS A LA APARICIÓN DE RETINOPATÍA DIABÉTICA (RD) TANTO EN DIABETES TIPO 1 COMO 2

	Tipo 1		p	Tipo 2		p
	No RD	Diabetes RD		No RD	Diabetes RD	
HbA1c	8,1	8,7	0,02	8,1	8,6	0,02
% pacientes	10,9%	22%	0,04	25,9%	36,5%	0,04
Alb. > 30 mg/24 h						
TA sistol.	116,6	119,7	0,2	143,6	147,2	0,07
TA diast.	69,8	73,3	0,04	80,2	79,7	0,6
Col.	185	203	0,007	225	224	0,9
TG	86,9	116,2	0,1	159	160	0,9
Tabaco	34%	30,8%	0,6	13,2%	14,7	0,8

HbA1c: Hemoglobina glicosilada (%). % Alb > 30mg/24 h: Porcentaje de pacientes con excreción de albúmina mayor de 30 mg/24 h. TA sistol.: Tensión arterial sistólica. TA diast.: Tensión arterial diastólica. Col.: Colesterol. TG: Triglicéridos. Tabaco: % pacientes que fuman.

relativo del 4º cuartil respecto del 1º para desarrollar RD estaba aumentado, RR = 2,22 (1,44-3,43), del tercero respecto al 1º de 1,98 (1,28-3,06) y del 2º cuartil respecto al 1º, de 1,29 (0,8-2,07). La tendencia para el conjunto de los cuatro cuartiles o estratos era significativa ($p = 0,0002$).

En el análisis univariante de los diversos factores que influyen en la

aparición de la RD, tanto para la diabetes tipo 1 como 2 están representados en la tabla IV. La tensión arterial diastólica aislada, el colesterol, la albuminuria y la HbA1c tenían significación estadística en la aparición de RD en la diabetes tipo 1 y sólo las dos primeras en la diabetes tipo 2.

Para el conjunto de ambos tipos de diabetes, sólo la HbA1c media ($p =$

0,0002), junto a los años de evolución de la diabetes ($p = 0,002$) y la tensión arterial media ($p = 0,022$) eran significativos para predecir la retinopatía diabética.

DISCUSIÓN

La pérdida de visión es una complicación común de los pacientes con diabetes mellitus. En un estudio transversal de 3.250 diabéticos insulino-dependientes procedentes de varios países europeos (Eurodiab) se ha descrito la prevalencia de retinopatía no proliferativa leve en un 25,8% de la muestra, severa en un 9,8% y en un 10,6% de retinopatía proliferativa, asociándose ambas, tanto a unos niveles mayores de HbA1c, como de tensión arterial, triglicéridos, así como de excreción de albúmina⁽⁷⁾. Estudios de prevalencia en España cifran la prevalencia de RD en diabéticos no insulino-dependientes en el 33%⁽⁸⁾. En el presente estudio, la incidencia de nueva aparición de RD en pacientes tanto tipo 1 como 2, está ligada a los niveles de HbA1c durante el tiempo de estudio y a los años de evolución de la diabetes. Otros factores como la tensión arterial no han resultado concluyentes. El control metabólico es decisivo para que la RD se inicie, independientemente del tipo de diabetes. Los niveles elevados de glucosa durante varios años es el principal factor en el desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares en la diabetes mellitus insulino-dependiente y, recientemente, también se ha encontrado la misma relación con la diabetes no insulino-dependiente. Reduciendo la glucemia media

se reduce el riesgo de progresión de las complicaciones microvasculares⁽⁵⁾.

Lloyd, en un seguimiento a 2 años de 657 diabéticos tipo 1, encuentra que sólo la tensión arterial diastólica está asociada a la aparición de cualquier retinopatía y la HbA1c y los triglicéridos a la progresión de la misma⁽⁹⁾. Kristinsson, en un estudio prospectivo a 4 años, encuentra una incidencia de cualquier tipo de retinopatía diabética del 38% (96 casos por 1.000 pacientes/año) en 175 diabéticos tipo 1 en Islandia, superior a nuestros datos de 68 casos por 1.000 pacientes/año. La incidencia de RP fue del 6,6% en ese lapso, aproximadamente 17 casos por 1.000 pacientes/año⁽¹⁰⁾.

Agardh, en un estudio a 5 años sobre 121 pacientes sin retinopatía al inicio, encuentra una incidencia de RD del 47%, lo que representan 94 casos por 1.000 pacientes/año, superior también a nuestra incidencia de RD en tipo 1. Encuentra una relación directa, tanto con el nivel de HbA1c, como con las cifras tensionales, tanto sistólicas, como diastólicas para la aparición de RD⁽¹¹⁾.

Klein, en un estudio a 4 años sobre RD en diabéticos tipo 1 de inicio, encuentra una incidencia del 5,1%, 13 casos por 1.000 pacientes/año, si bien son pacientes prepuberales, menores de 15 años de edad de media. Encuentra un riesgo 3 veces superior para tener RD si durante el seguimiento la HbA1c media es superior al 12% respecto a los que lo tienen menor⁽¹²⁾. Para Klein, en otro estudio a 10 años, el control glucémico medido por la hemoglobina glicosilada al inicio del estudio está estrechamente ligado a la incidencia y progresión de la RD⁽¹³⁾.

En diabéticos tipo 2, Chen encuen-

tra una incidencia de RD del 19% a 4 años vista, apareciendo esta complicación en 66 pacientes de 344 sin retinopatía, correlacionándolo con la glucemia media, así como con los años de evolución de la diabetes⁽¹⁴⁾. Incluso en diabéticos leves, la progresión hacia la RD está claramente relacionada con el control glucémico con un incremento del riesgo relativo del 1,4 por cada uno por ciento de aumento de la HbA1c⁽¹⁵⁾. Para Guillaudeau la incidencia de aparición de RD a 13 años (29,8%) está relacionado con la HbA1c media y con la hipertensión⁽¹⁶⁾. En nuestro estudio, con diabetes tipo 2 evolucionaron hacia RD un 17,3%, lo que da una tasa de 87 casos por 1.000 pacientes/año.

Existe una relación no lineal entre los niveles de HbA1c y la progresión de la retinopatía diabética⁽⁴⁾. La controversia de la existencia de un umbral glucémico por debajo del cual el riesgo de complicaciones diabéticas es mínimo o inexistente, todavía pervive. Algunos autores, como Krowleski⁽²⁾, fijan en la HbA1 del 10,1%, equivalente a una HbA1c del 8,1%, como el punto de corte para que la excreción de albúmina se incremente sustancialmente. Este umbral ha sido posteriormente ampliado a todo tipo de microangiopatía con especial referencia a la RD⁽¹⁷⁾.

Con nuestros datos podemos aportar que la RD aparece en el 10% de los pacientes con HbA1c media en el cuartil más bajo (< 6,7%) o en el 9% de los que mantienen una HbA1c inferior al 6%. Esto no apoyaría la existencia de un umbral para las complicaciones y sí un continuo incremento del riesgo en función de diversos factores, uno de los cuales, y posiblemente el más importante, sea el control metabólico. El

hecho de asumir el grado de control metabólico por la media de dos HbA1c al principio y al final del estudio tiene sus limitaciones. Al ser pacientes controlados habitualmente en ese lugar, el control metabólico medido por una HbA1c ocasional se correlaciona altamente con la media de las HbA1c de los últimos 5 años⁽¹⁸⁾.

En conclusión, coincidimos con la mayoría de los autores^(4, 6, 19) en el valor del control metabólico como determinante de las complicaciones crónicas diabéticas, si bien no podemos concluir en la existencia de un umbral para la aparición de la RD, al menos en su forma más benigna.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 DCCT 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.
- 2 Krowleski AS, Laffel LM, Krowleski M, Quinn M, Warram JH. Glycosilated hemoglobin and the risk of microalbuminuria in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995;**332**:1251-1255.
- 3 Brinchmann-Hansen O, Dahl-Jorgensen K, Sandvick L, Hanssen KF. Blood glucose concentration and progression of diabetic retinopathy: The seven year results of the Oslo study. *Br Med J* 1992;**304**:19-22.
- 4 The Diabetes Control and Complications Trial. The absence of a glycemic threshold for the development of long term complications: the perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1996;**45**:1289-1298.
- 5 DCCT Research Group. Effect of intensive therapy on the development and progression

- of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int* 1995;**47**:1703-1720.
- 6 Hanssen KF, Bangstad HJ, Brinchmann-Hansen O, Dahl-Jorgensen K. Blood glucose control and diabetic microvascular complications: long term effects of near normoglycemia. *Diabetes Med* 1992;**9**:697-705.
- 7 Sjolje AK, Stephenson J, Aldington J, Kohner E, Jenka H, Stevens L. Retinopathy and vision loss in insulin dependent diabetes in Europe: the EuroDiab IDDM complications study. *Ophthalmology* 1997;**104**:252-260.
- 8 Morato J, Herrera Ruiz A, Valerio Sallent LL. Cronología de las complicaciones en la diabetes del adulto. El estudio Raval Sud. *An Med Interna* 1995;**12**:431-437.
- 9 Lloyd CE, Klein R, Maser RE, Kuller L, Beck DJ, Orchard TJ. The progression of retinopathy over 2 years: the Pittsburgh Epidemiology of diabetes complications study. *J Diabetes Complications* 1995;**19**:140-148.
- 10 Kristinsson JK, Heuksdottir H, Stefansson E, Jonesson F, Gisleson I. Active prevention in diabetic eye disease. 4 year follow-up. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;**75**:249-254.
- 11 Agardh CD, Agardh E, Toffvit O. The association between retinopathy, nephropathy, cardiovascular disease and long term metabolic control in type 1 diabetes mellitus: a 5 year follow up study of 442 adult patients in a routine care. *Diabetes Res Clin Pract* 1997;**35**:113-121.
- 12 Klein R, Palta M, Allen C, Shen G, Hem DP. Incidence of retinopathy and associated risk factors from time of diagnosis of insulin dependent diabetes. *Arch Ophthalmol* 1997;**115**:351-356.
- 13 Klein R, Klein BE, Moss SE. Relation of glycemic control to diabetic complications in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1996;**124**:90-96.
- 14 Che M, Kao CS, Fu CC, Chen CJ, Tay TY. Incidence and progression of diabetic retinopathy among non insulin dependent diabetic subjects: a 4 year follow up. *Int J Epidemiol* 1995;**24**:787-795.
- 15 Henricsson M, Groop L, Heyl A. Progression of retinopathy is related to glycaemic control even in patients with mild diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;**74**:528-532.
- 16 Guillausseau PJ, Massin P, Charles MA, Allaguy H, Guvenli Z y cols. Glycaemic control and development of retinopathy in type 2 diabetes mellitus: A longitudinal study. *Diabet Med* 1998;**15**:151-155.
- 17 Warram JH, Manson JE, Krowleski AS. Glycosylated hemoglobin ad the risk of retinopathy in insulin dependent diabetes mellitus. *New Engl J Med* 1995;**332**:1305-1306.
- 18 D'Antonio JA, Ellis D, Doft BH. Diabetes complications and glycemic control. *Diabetes Care* 1989;**12**:694-700.
- 19 Hanssen N. Blood glucose control and microvascular complications in diabetes. *Diabetes* 1997;**46**:S101-103.

In vivo and *in vitro* study of the absorption and intestinal metabolism of carbohydrates in a model of type 2 diabetic rats

M.A. Tormo, F. Roper, M. Nieto, I. Martínez, J.E. Campillo

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura.

Correspondence to: M.A. Tormo, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Apartado 108, 06071 Badajoz.

Aceptado: Noviembre 1998.

RESUMEN: Se ha estudiado *in vivo* e *in vitro* la digestión, absorción y metabolismo de los hidratos de carbono en un modelo de diabetes tipo 2 en ratas.

Estudio *in vivo*: tras la administración oral de glucosa (0,5 g/kg p.c.) y maltosa (2 g/kg p.c.), los incrementos de glucemia sobre el valor basal fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en ratas diabéticas que en normales, mientras que los valores de insulinaemia tras la sobrecarga son significativamente menores ($p < 0,01$) en ratas diabéticas que en las ratas normales en todos los tiempos estudiados. Estudio *in vitro*: se realiza utilizando una preparación de intestino delgado (completo, proximal o distal) aislado y perfundido *in vitro*. En ausencia de administración luminal de glucosa o maltosa no se observaron diferencias significativas en el consumo de glucosa, ni en la producción de alanina y piruvato entre las preparaciones de ratas normales y diabéticas: la producción intestinal de lactato fue menor ($0,47 \pm 0,03$ mmol/l) en ratas normales que en diabéticas ($0,55 \pm 0,001$ mmol/l, $p < 0,05$). La administración luminal de glucosa (4 g/kg p.c.) o maltosa (2 g/kg p.c.) en preparaciones de intestino completo produce un incremento similar de los valores de glucosa portal en ratas normales y en diabéticas. Los incrementos de glucosa portal (mmol/h) obtenidos tras la administración luminal de maltosa a preparaciones de intestino proximal y distal de ratas diabéticas son significativamente mayores ($p < 0,05$) que los de ratas normales. Tras la administración luminal de glucosa en preparaciones de intestino completo el consumo de glucosa aumenta tanto en ratas normales ($2,87 \pm 0,25$ mmol/h; $p < 0,01$) como en diabéticas ($3,31 \pm 0,29$ mmol/h; $p < 0,05$) respecto a la glucosa consumida tras la administración luminal de NaCl ($0,39 \pm 0,02$ y $0,41 \pm 0,0$ mmol/h en normales y diabéticas respectivamente). En preparaciones de intestino completo de ratas diabéticas el lactato producido es significativamente mayor tras la administración luminal de maltosa con respecto a los valores obtenidos tras la administración de glucosa ($0,77 \pm 0,07$ y $0,55 \pm 0,01$ mmol/h respectivamente; $p < 0,05$). Por el contrario, se observa una menor producción de alanina en las preparaciones de intestino completo de ratas diabéticas que en normales tras la administración luminal de glucosa ($8,76 \pm 0,79$ y $12,37 \pm 0,36$ μ mol/h respectivamente; $p < 0,05$) y maltosa ($6,01 \pm 0,67$ y $14,80 \pm 2,83$ μ mol/h respectivamente, $p < 0,05$). En conclusión en este modelo de diabetes tipo 2, se observa: A. *In vivo*, muestra una clara intolerancia a los hidratos de carbono. B. *In vitro*, en ausencia de administración luminal de glucosa o maltosa no se observa un aumento en el consumo de glucosa, aunque sí hay un aumento en la producción de lactato. Tras la administración luminal de glucosa o maltosa, no se observan cambios significativos en la absorción de glucosa; por el contrario, sí se observa una menor producción de alanina.

PALABRAS CLAVE: Glucosa consumida; Producción de lactato; Producción de alanina; Diabetes experimental tipo 2.

ABSTRACT: The digestion, absorption, and intestinal metabolism of carbohydrates is studied *in vivo* and *in vitro* in a rat model of type 2 diabetes.

In vivo study: After the oral administration of glucose (0.5 g/kg b.w.) and maltose (2 g/kg b.w.), the increments of glycaemia over the basal level were significantly greater ($p < 0.05$) in diabetic than in normal rats, while the insulinaemia levels after the load were significantly lower in diabetic ($p < 0.01$) than in normal rats at all the times studied.

In vitro study: This was performed using an isolated and perfused small intestine (complete, proximal, or distal) preparation. In the absence of a luminal administration of glucose or maltose, no significant differences were observed in the glucose uptake and in the alanine or pyruvate release of normal and diabetic rat preparations. The intestinal lactate production was lower in normal (0.47 ± 0.03 mmol/l) than in diabetic (0.55 ± 0.001 mmol/l) rats ($p < 0.05$). The luminal administration of glucose (4 g/kg b.w.) or maltose (2 g/kg b.w.) increased the portal glucose levels to the same extent in both normal and diabetic rats. The increments in portal glucose (mmol/h) obtained after the luminal administration of maltose to the proximal and distal small intestine of diabetic rats were significantly greater ($p < 0.05$) than those of normal rats. After the luminal administration of glucose, one observed an increase in glucose consumed both in normal (2.87 ± 0.25 mmol/h; $p < 0.01$) and in diabetic (3.31 ± 0.29 mmol/h; $p < 0.05$) rats with respect to the uptake after the luminal administration of NaCl (0.39 ± 0.02 and 0.41 ± 0.05 mmol/h in normal and diabetic rats, respectively). In diabetic rats, the lactate produced by the complete intestine preparations was significantly greater after the luminal administration of maltose relative to the value obtained after the administration of glucose (0.77 ± 0.07 and 0.55 ± 0.01 mmol/h, respectively; $p < 0.05$), and on perfusing the proximal intestine (0.51 ± 0.22 mmol/h; $p < 0.05$) and distal intestine (0.49 ± 0.02 mmol/h; $p < 0.01$). There was significantly less alanine produced by the preparations from diabetic rats than from normal rats after luminal glucose administration (8.76 ± 0.79 and 12.37 ± 0.36 μ mol/h respectively; $p < 0.05$) and maltose administration (6.01 ± 14.80 and 14.80 ± 2.83 μ mol/h; $p < 0.05$). In conclusion, one observes that in this rat model of type 2 diabetes:

A. *In vivo*, after an oral glucose overload, there were greater increments of blood glucose in the diabetic than in the normal rats, showing the carbohydrate intolerance.

B. *In vitro*, firstly, in the absence of any intraluminal glucose or maltose administration, no increase in the consumed of glucose was observed, and there was an enhanced lactate production with respect to the normal rats. Secondly, after luminal glucose and maltose administration, no significant changes were observed in glucose absorption, but there was a smaller production of alanine relative to the normal rats.

KEY WORDS: Glucose consumed; Lactate production; Alanine production; Experimental type 2 diabetes.

INTRODUCTION

The intestine has an important role in homeostasis due to its extraordinary metabolic capacities and its highly polarized structure⁽¹⁾. It is known that diabetes, experimental animals and humans is accompanied by a diminished capacity of the intestine to metabolize glucose and an increase in sugar absorption through the intestinal wall. Experimental induction of diabetes mellitus in animals produces, apart from this increase in absorptive function of the small intestine, a raised activity of the intestinal disaccharidases⁽²⁾. Experimental diabetes is also associated with functional and structural changes of the small intestine^(3,4). Insulin treatment prevents some of these changes⁽⁵⁾. This fact, together with the reversibility of the increased enzymatic activity on administering insulin can be regarded as a sign that the alterations described might be due to an insulin deficit rather than to toxic effects of diabetogenic agents⁽⁵⁾. Most studies of the influence of diabetes on intestinal glucose absorption have been carried out in classical rat models of type 1 diabetes⁽⁵⁻⁹⁾ and very few in humans⁽¹⁰⁻¹²⁾. We know of no study in the literature performed on the commonest form of diabetes: type 2 diabetes. The objective of the present work was therefore to study *in vivo* and *in vitro* the digestion, absorption, and intestinal metabolism of carbohydrates in an experimental rat model of type 2 (model n0-STZ).

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals

Normal and diabetic (model n0-

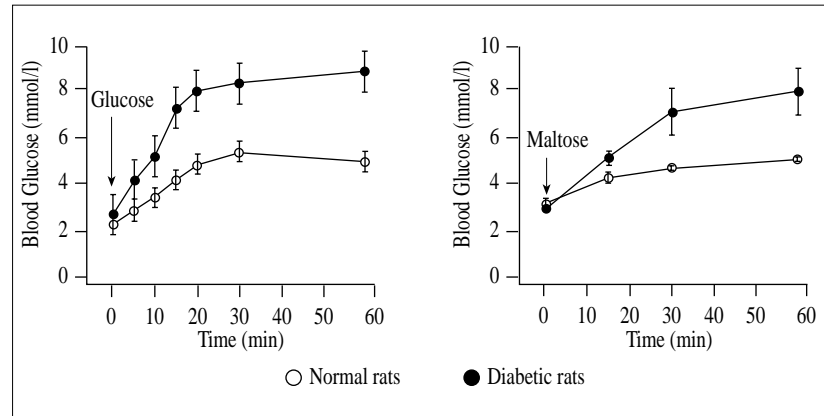


Figure 1. Glycaemia and insulinaemia in normal and diabetic rats after oral glucose (0.5 g/kg b.w.) and maltose (2 g/kg b.w.) administration (Number of cases n = 6-8).

STZ) male Wistar rats of 250-350 g were used. The animals were housed in the UEX animalarium at $24 \pm 2^\circ\text{C}$, with lighting from 08.00 to 20.00 h, and fed a standard diet (maintenance diet IPM R20, Letica, Barcelona, Spain). The type 2 diabetes (model n0-STZ)⁽¹³⁾ is obtained by injecting the rats on the day of birth a single intraperitoneal dose of streptozotocin (100 mg/kg b.w.), dissolved in a 0.1 mmol/l pH 4 citrate buffer. The control rats received only the citrate buffer injection. The *in vivo* and *in vitro* studies of the present work were performed when the rats were from 2 until 3 months in age.

In vivo study

An oral test of glucose and maltose tolerance was performed after 18 hours of fast. A first blood sample was taken from the tail at time 0, followed by the oral administration of glucose (0.5 g/kg b.w.) or maltose (2 g/kg b.w.) dissolved in 0.9% NaCl through a gastric cannula. From that moment, blood was sampled from the tail at the times indicated in figure 1. Glycaemia was

determined immediately using reagent strips read in a One Touch blood glucose meter (Lifescan, California, USA). The rest of the sample was centrifuged and the plasma taken of and stored at -70°C until the insulin assay. This was by means of radioimmunoassay (Insuline Ria Kit, Micromedica, INC Biomedical, Costa Mesa, USA), using rat insulin (Novo, Copenhagen, Denmark) as standard.

In vitro study

The isolation and perfusion of the small intestine pancreas were performed according to⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ with minor modifications^(1, 17-19). The rats were anesthetized with intraperitoneal sodium pentobarbital (65 mg/kg b.w., Serva, Heidelberg, Germany) and the abdomen was opened. The colon was removed and the inferior mesenteric artery was ligated. The oesophagus was ligated and transected about 0.5 cm above the gastroesophageal junction. The spleen and stomach together with the gastric and pancreatic fat pad were removed followed by ligation and tran-

section of all the abdominal branches of the aorta, except for the superior mesenteric and the celiac arteries, and of all branches of the inferior vena cava. The aorta was ligated caudal to the superior mesenteric artery. Then the thorax was opened and a silver cannula, connected to the perfusion system, was quickly placed inside the aorta just below the diaphragm and tied, and the oxygenated perfusion fluid was immediately allowed to enter the preparation. The hepatic artery was ligated and a silver cannula was placed inside the portal vein and tied. The liver was removed, the lumen of the small bowel was flushed free of diet residue with 20 ml of NaCl 0.9% at 37°C and a cannula was inserted into the duodenum for the luminal administration of substances, and then the small bowel end was tied. The entire preparation was removed and placed in a small thermostatic (37°C) bath containing NaCl 0.9% supplemented with 2% dextran (M.W. 70 000, Sigma, St. Louis, Mo, USA). For the isolation of the proximal intestine, all the vessels irrigating the distal part of the small intestine were ligated, and a cannula was inserted into duodenum for the luminal administration of substances. For the isolation of the distal part of the small intestine, the stomach was removed, all the vessels irrigating the proximal part of the small intestine were ligated, and a cannula was left inserted into the proximal part of the distal intestine for the luminal administration of substances. The isolated preparation was perfused via the cannulated aorta without recirculation with a Krebs-Henseleit bicarbonate medium (37°C) containing (mmol/l): NaCl 120,

KCl 4, MgSO₄ 0.7, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 1 and K₂HPO₄ 1.2, supplemented with 0.5 mg/100 ml albumin (bovine albumin fraction V, Sigma), 1.5 mg/100 ml dextran and glucose at the adequate concentration to obtain a final concentration in the perfusate of 5.5 mmol/l. The perfusion medium was oxygenated with 95% O₂ and 5% CO₂ for 30 min, prior to attachment of the preparation and throughout the experiment; the pH was kept constant at 7.4. The perfusate was pumped using a peristaltic pump (Harvard, model 12034) at a flow rate of 3 ml/min resulting in an arterial perfusion pressure of 20-30 mmHg. After a stabilization period of 20 min without specimen collection, the samples were collected in chilled tubes from the cannulated portal vein, at the times indicated in Results. At time 0, NaCl 0.9% alone, or with glucose (4g/kg b.w.) or maltose (2g/kg b.w.) was administered via the intestinal cannula.

Lactate, pyruvate (detection limits 0.16-3.99 mg/dl) and glucose were assayed enzymatically, using reagents from Boehringer-Mannheim (Germany). Alanine concentration (detection limits 10-100 mmol/l) was assayed enzymatically using reagents from Boehringer-Mannheim (Germany). The PO₂, PCO₂ and pH were measured in the in- and outflow of the perfusate with a gas analyzer (ABL 330 Radiometer, Copenhagen, Denmark). The samples were aspirated as anaerobically as possible with an arterial blood sampler (Preza-pak II, Terumo Corporation, Tokyo, Japan). The oxygen supply to the preparation was adequate to support rates of aerobic respiration.

Calculations and statistical analysis

In the *in vivo* study, the increments in glycaemia (mmol/h) and insulinaemia (ng/h) relative to the basal levels were calculated planimetrically. In the *in vitro* study, in calculating the results, use was made of the following expressions: Values of portal glucose and lactate (pmol/min): mmol/l measured in the portal vein effluent multiplied by the flow rate. Total portal glucose and lactate values (mmol/60 min): the area under the curve was calculated planimetrically for the 60 min. Total arterially infused glucose for the 60 min experimental period (mmol/60 min): the mmol/l arterial glucose were multiplied by the flow rate and by 60 min. Consumed glucose (mmol/60 min): the total arterial and luminal infused glucose minus the total portal glucose. Glucose absorbed by the intestine during the 60 min experimental period: the total lumenally administered glucose or maltose minus the glucose or maltose present in the intestine at the end of the experiment.

The results are expressed as means with their corresponding standard errors of means. Statistical analyses were performed on a Macintosh LC II using the StatWorks™ version 1.0. Comparisons between populations were by means of the Mann-Whitney U test for independent samples.

RESULTS

The characteristics of the animals used are listed in table I. It can be seen that the diabetic rats present basal hyperglycaemia and hypoinsulinaemia, and a significantly lower pancreatic insulin content.

TABLE I WEIGHT, BASAL BLOOD GLUCOSE AND PLASMA INSULIN LEVELS, AND PANCREATIC INSULINIC CONTENT MEASURED IN NORMAL AND DIABETIC RATS

	Normal rats	Diabetic rats
Weight (g)	286.9 ± 6.8	282.0 ± 7.3
Blood glucose (mmol/L)	5.25 ± 0.13	8.60 ± 0.20**
Plasma insulin (ng/ml)	2.65 ± 0.40	1.20 ± 0.20**
Pancreatic insulin content (U/g tissue)	1.20 ± 0.20	0.70 ± 0.20*

Values are mean ± SEM of 10-20 observations in each group. ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ versus normal rats.

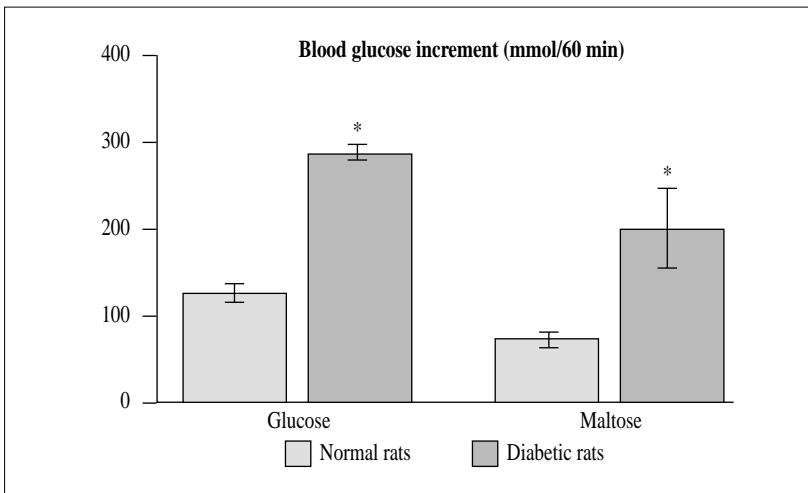


Figure 2. Increments of glycaemia over the basal value obtained from the results shown in figure 1 (* $p < 0.05$).

In vivo study

Figure 1 shows the glycaemia values determined in normal and diabetic rats after the oral administration of glucose or maltose. The glycaemia rises steadily over time in both normal and diabetic rats. This rise was, however, significantly greater ($p < 0.01$) in the diabetic rats at all the times studied, both after glucose and after maltose. The increments in plasma glucose over the basal levels (Fig. 2) after a glucose and maltose load were significantly ($p < 0.05$) greater in the diabetic than in the normal rats. In both normal and diabetic

rats, these increments were significantly greater after the glucose than after the maltose load. In normal rats, a good secretory insulin response was observed to the glucose overload, starting from a basal value of 1.66 ± 0.15 ng/ml and reaching a maximum value of 4.22 ± 0.58 ng/ml at 15 min. In the diabetic rats, however, this secretory insulin response was not observed (basal insulinemia: 1.32 ± 0.13 ng/ml; and 15 min after the overload: 1.73 ± 0.21 ng/ml), with the plasma insulin levels being significantly lower ($p < 0.01$) than for the normal rats at all the times studied.

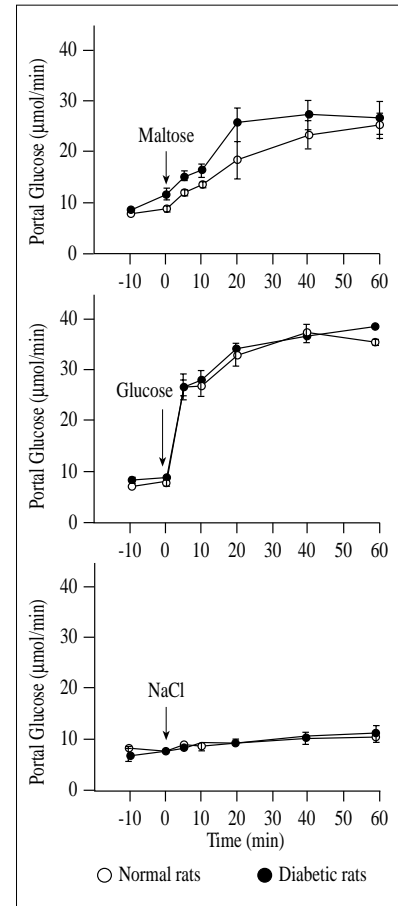


Figure 3. Portal glucose values obtained when normal and diabetic rat pancreas small intestine preparations were perfused *in vitro* with an arterial glucose concentration of 5.5 mmol/l and, at time 0, 0.9% NaCl alone or containing glucose (4 g/kg b.w.) or maltose (2 g/kg b.w.) was administered luminally (Number of cases $n = 4-6$ in each group).

In vitro study

Figure 3 shows the values of portal vein glucose in normal and diabetic rats when the complete small intestine preparation was perfused at an arterial concentration of 5.5 mmol/l glucose and at time 0 an intraduodenal bolus of 1.5 ml 0.9% NaCl was administered alone or containing glucose (4 g/kg b.w.) or maltose (2 g/kg b.w.). It can be seen that, after the NaCl bolus alone, there were no significant changes in the appearance of glucose in the portal vein

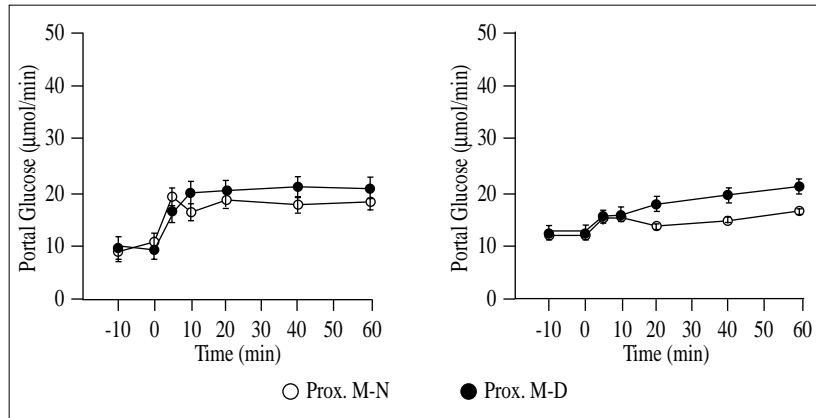


Figure 4. Portal glucose values obtained when normal (N) and diabetic (D) rat proximal (Prox) and distal (Distal) small intestine preparations were perfused *in vitro* with an arterial glucose concentration of 5.5 mmol/l and, at time 0, maltose (2 g/kg b.w.) was administered luminally (Number of cases n = 4-6 in each group).

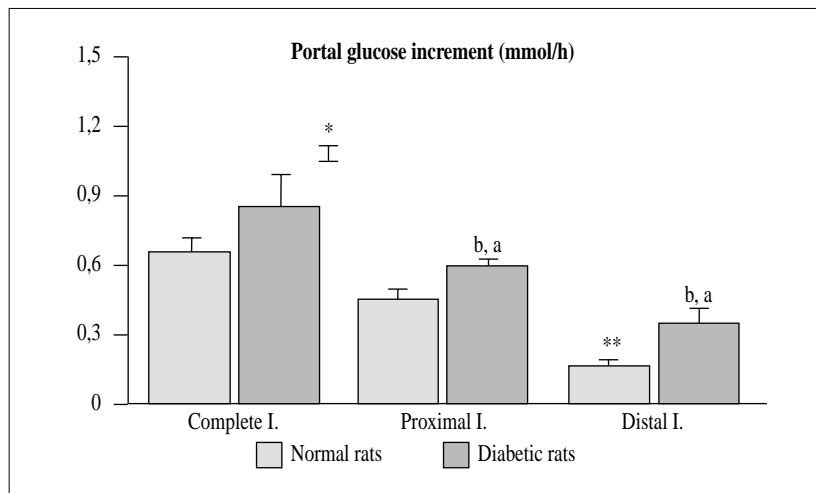


Figure 5. Increments of glucose over the basal level obtained with the results shown in figure 3 and figure 4 (* $p < 0.05$ vs normal rats; ^b $p < 0.05$ vs complete intestine of diabetic rats; ** $p < 0.01$ vs complete intestine of normal rats).

in either normal or diabetic rats. After the intraduodenal administration of glucose, there was a rapid rise in the portal glucose values in both normal and diabetic rats, and this rise continued throughout the perfusion period reaching a value at 60 min of 35.7 ± 0.9 $\mu\text{mol}/\text{min}$ in normal rats and 38.83 ± 0.64 $\mu\text{mol}/\text{min}$ in the diabetic rats. There were no statistically significant differences between the two groups.

After the maltose bolus, there was also a rise in portal glucose in both groups of rats. But this rise was not as rapid as for the glucose bolus, and the values were less than for the glucose bolus for both normal and diabetic rats (25.15 ± 2.42 and 26.53 ± 3.12 mmol/min at minute 60 of perfusion, respectively). The differences, nonetheless, were not significant. Similar results after the administration of maltose (2 g/kg b.w.)

were obtained when the preparations consisted only of the proximal or distal intestine (Fig. 4), although the portal glucose values were slightly less than those obtained by perfusing the complete small intestine. Thus, for the proximal intestine, the 60 min values were 18.34 ± 0.69 and 20.83 ± 0.52 $\mu\text{mol}/\text{min}$ in the normal and diabetic rats, respectively. For the distal intestine, these values were 16.68 ± 0.38 and 21.23 ± 0.82 $\mu\text{mol}/\text{min}$, respectively. This phenomenon can be appreciated more clearly in figure 5 which shows the increments in portal glucose (mmol/60 min) over the basal level for the complete, the proximal, and the distal intestine preparations. These increments were lower when the proximal small intestine was perfused, and lower still for the distal small intestine of normal and diabetic rats. The difference, however, was only significant for normal rats when the results were from perfusing the distal intestine ($p < 0.01$). The increments for the proximal and distal intestine preparations from diabetic rats were greater ($p < 0.05$) than when the preparations were from normal rats, and significantly less ($p < 0.05$) than those obtained for the complete intestine preparations from diabetic rats.

As can be seen from table II, after the bolus of 0.9% NaCl alone, the glucose consumed and the portal values of alanine and pyruvate produced by the preparation (mmol/60 min) were similar in normal and diabetic rats. However, the lactate production was significantly ($p < 0.05$) greater in the diabetic than in the normal rats. After the luminal administration of glucose, the glucose consumed was also similar in

TABLE II CONSUMED AND ABSORBED GLUCOSE, AND LACTATE, ALANINE AND PYRUVATE RELEASED BY PREPARATIONS PERFUSED AS IN FIGURE 3

	<i>Normal rats</i>	<i>Diabetic rats</i>	
Consumed glucose (mmol/h)	NaCl	0.39 ± 0.02	0.41 ± 10.05
	Glucose	2.87 ± 0.25**	3.31 ± 0.29*
	Maltose	1.78 ± 0.14	1.45 ± 0.23
Absorbed glucose (mmol/h)	NaCl		
	Glucose	3.83 ± 0.22	4.38 ± 0.30
	Maltose	1.87 ± 0.24 ^{bb}	1.92 ± 0.37 ^b
Released lactate (mmol/h)	NaCl	0.47 ± 0.03	0.55 ± 0.00 ^a
	Glucose	0.54 ± 0.03*	0.55 ± 0.01
	Maltose	0.61 ± 0.09*	0.77 ± 0.07 ^b
Released alanine (µmol/h)	NaCl	9.98 ± 2.60	6.96 ± 1.13
	Glucose	12.37 ± 0.36	8.76 ± 0.79 ^a
	Maltose	14.80 ± 2.83	6.01 ± 0.67 ^a
Released pyruvate (µmol/h)	NaCl	5.52 ± 0.39	5.41 ± 1.31
	Glucose	2.94 ± 0.83*	4.36 ± 0.11
	Maltose	2.39 ± 0.52	3.80 ± 0.69

*Values are mean ± SEM of 4-6 observations in each group. *p < 0.05 vs NaCl; **p < 0.01 vs NaCl; ap < 0.05 vs normal rats; bbp < 0.01 and bp < 0.05 vs glucose.*

the normal and the diabetic rats, but was now higher than when NaCl 0.9% was administered alone, for both the normal ($p < 0.01$) and diabetic ($p < 0.05$) rats. The lactate and pyruvate production in these conditions was similar for the normal and the diabetic rats. The alanine production, however, was significantly less ($p < 0.05$) in the diabetic than in the normal rats (Table II). After the maltose bolus, no statistically significant differences were observed either, whether in the consumed or absorption of glucose, or in the lactate or pyruvate produced. But the alanine values were significantly lower for the diabetic rats ($p < 0.05$) relative to the values for the preparations from the normal rats, and also lower than those obtained after the glucose bolus, as can be seen in table II. After the maltose

bolus, one observed (Table III) that the total lactate produced (mmol/h) at 60 min of perfusion of the complete small intestine preparation was 0.61 ± 0.09 in the normal rats, and 0.77 ± 0.07 in the diabetic rats. The lowest values of portal lactate were found in distal small intestine preparations from normal rats (0.33 ± 0.02), with a significance of $p < 0.05$ with respect to the diabetic rats, and in preparations of the complete and/or proximal intestine. Similarly, there were significant differences in lactate production in preparations of the proximal small intestine (0.51 ± 0.02) and of the complete small intestine (0.77 ± 0.07 ; $p < 0.05$) of diabetic rats. Respecting the alanine production, no significant differences were observed between the preparations from normal and diabetic rats under any of

the three experimental conditions studied. There was only observed for normal rats a lower alanine production in the distal small intestine preparations (8.75 ± 1.86 mmol/60 min) than in the preparations of the proximal small intestine (13.48 ± 1.65 mmol/60 min; $p < 0.01$). In the diabetic rats, the production of alanine in the proximal small intestine was significantly ($p < 0.05$) greater (15.87 ± 1.41 mmol/60 min) than when perfusing the complete small intestine (6.01 ± 0.67 mmol/60 min) or the distal small intestine (9.13 ± 1.03). The pyruvate production values (mmol/60 min) were similar at the three experimental conditions in diabetic rats. But in normal rats, these values were significantly higher when perfusing the distal small intestine (4.49 ± 0.71) than the complete intestine (2.39 ± 0.52 ; $p < 0.05$) and than the proximal intestine (3.14 ± 0.42 ; $p < 0.05$).

DISCUSSION

Experimental model of diabetes

The model of diabetes used in the present study was described by Portha et al., 1974. It is denominated model n0-STZ. We have characterized further the model in the present study. Thus, the diabetic rats presented a slight hyperglycaemia, hypoinsulinaemia, and a pancreatic insulin content below that of normal rats. They also presented a clear glucose intolerance after the oral administration of glucose and of maltose.

Since several studies have shown that diabetes can influence the processes of digestion, absorption, and intestinal metabolism of carbohydrates^(5,6, 9,10, 20-26), there was evidently a

TABLE III CONSUMED AND ABSORBED GLUCOSE, AND LACTATE, ALANINE AND PYRUVATE RELEASED IN PERFUSED COMPLETE SMALL INTESTINE (COMPLETE I), PROXIMAL INTESTINE (PROXIMAL I) AND DISTAL INTESTINE (DISTAL I) FROM NORMAL (N) AND DIABETIC (D) RATS WITH 5.5 MMOL/L ARTERIAL GLUCOSE AND INTRADUODENAL ADMINISTRATION OF A BOLUS OF MALTOSE (2 G/KG B.W)

		<i>Complete I</i>	<i>Proximal I</i>	<i>Distal I</i>
Consumed glucose (mmol/h)	N	1.27 ± 0.15	1.83 ± 0.07	2.50 ± 0.14a
	D	1.07 ± 0.25	1.89 ± 0.16	2.04 ± 0.20
Absorbed glucose (mmol/h)	N	1.87 ± 0.24	2.31 ± 0.08	2.66 ± 0.14
	D	1.92 ± 0.37	2.69 ± 0.04	2.38 ± 0.18
Released lactate (mmol/h)	N	0.61 ± 0.09	0.51 ± 0.04	0.33 ± 0.02* ^b
	D	0.77 ± 0.07	0.51 ± 0.02*	0.49 ± 0.02**
Released alanine (μmol/h)	N	14.8 ± 2.83	13.48 ± 1.65	8.75 ± 1.86a
	D	6.01 ± 0.76	15.87 ± 1.41	9.13 ± 1.03b
Released pyruvate (μmol/h)	N	2.39 ± 0.52	3.14 ± 0.42	4.49 ± 0.71a
	D	3.80 ± 0.69	3.74 ± 0.47	3.13 ± 0.83

*Values are mean ± SEM of 4-6 observations in each group. **p < 0.01 and *p < 0.05 vs Complete I; ap < 0.01; bp < 0.05 vs Complete I and Proximal I, respectively.*

need to better understand these aspects of the experimental model.

Metabolic response of the pancreas/small intestine preparation when glucose was administered exclusively arterially

When the pancreas/small intestine preparations of normal and diabetic Wistar rats were perfused in vitro at 5.5 mmol/l arterial glucose and administered a bolus of 0.9% NaCl, no statistically significant differences were observed in the glucose consumed of the diabetic rat preparations. These data coincide with those obtained by us⁽²⁶⁾ and other authors^(6, 9, 22, 25, 27-29) in a model of type 1 experimental diabetes. With respect to the lactate secreted, our preparations from diabetic rats produced significantly more lactate than the normal rat preparations. These data also agree

with those we obtained in an insulin-dependent diabetes model⁽²⁶⁾, and are in disagreement with those obtained in other work^(9, 30) which found a decrease in the lactate production in the diabetic rat intestine. This rise in lactate production could be related to a decline in the active form of pyruvate dehydrogenase, as has been demonstrated⁽³¹⁾ in isolated adipocytes and skeletal muscle of diabetic rats in an experimental model of diabetes similar to that used in the present work. In conclusion, our results show that, in the absence of intraluminal administration of carbohydrates, the pancreas/small intestine preparation from both normal and diabetic rats consumes a high proportion of the glucose (approximately 44%) administered arterially and produces lactate, with this latter production being 1.17 times greater in the diabetic than in the normal rat.

Metabolic response of the pancreas/small intestine preparation to glucose and maltose administered duodenally

When the pancreas/small intestine preparations were perfused at 5.5 mmol/l arterial glucose and administered a bolus of glucose (4 g/kg b.w.) intraduodenally, one observed a rise in the portal glucose levels in both normal and diabetic rats. This indicates an absorption and transport of the glucose through the intestinal wall into the portal circulation. There were no statistically significant differences between normal and diabetic rats with respect to glucose absorption after the glucose and maltose overloads, although the glucose absorbed after the maltose bolus was significantly less than that after the glucose bolus for both the normal ($p < 0.01$) and diabetic ($p < 0.05$) rats. The glucose consumed after the carbohydrate overload rose in both normal and diabetic rats relative to the values after the bolus of 0.9% NaCl alone, but there were neither any significant differences between normal and diabetic rats nor with respect to the type of carbohydrate administered. The total portal lactate values after the intraluminal administration of glucose and maltose were greater ($p < 0.05$) than after the administration of 0.9% NaCl in normal rats, but not in diabetic rats. In the latter, there was only a significant rise in lactate after the maltose bolus with respect to the NaCl. The preparations from the diabetic rats produced significantly more lactate after the maltose bolus than after the glucose bolus.

The data we obtained regarding the absorption and intestinal transport of

glucose were similar to those found in patients with insulin-dependent diabetes⁽¹¹⁾, but differ from the results of other authors. In insulin-dependent diabetic subjects, there has been described an increase in the absorption and intestinal transport of glucose^(10, 12), as well as in animals with experimental insulin-dependent diabetes, both *in vivo*^(7, 32-35) and *in vitro*^(22, 36-38). In an *in vivo* study⁽⁷⁾, the author studied the modulation of glucose transport in situations of hyper or normoglycaemia, and hyper- or normoinsulinaemia, and observed that there is a rise in glucose transport across the intestinal epithelium in diabetes due to an increased number of carriers, without there being any change in the intracellular metabolism of glucose. It is possible that the differences found with type 2 diabetic rats is because in our model of diabetes there is only a slight hyperglycaemia and furthermore the pancreas is still secreting insulin. The results with respect to lactate production in normal rats agree with those of⁽²⁹⁾, which indicate that after the intragastric administration of glucose (4 g/kg b.w.) in fasted rats there is a small net production of lactate from the ingested glucose. In studies carried out on dogs⁽³⁹⁻⁴⁰⁾, it was found that only 12-20% of the ingested glucose is metabolized during the absorption process and that lactate is the main product. In humans, however⁽⁴¹⁾, no significant lactate production is found after an oral glucose overload. Nonetheless⁽⁴²⁾, on studying the differences between arterial and venous (portal vein) concentrations after an oral overload in humans, glucose consumed by the intestine was found to be accompanied by a small lactate production. All these

data contrast with the data obtained by using *in vitro* perfusions of isolated sections of the rat jejunum. In this sense, it was found in⁽⁶⁾ that 50% of the glucose absorbed from the lumen is transported into the blood supply without change, and that almost all the rest of the glucose is converted into lactate which later diffuses into the circulation; in⁽²⁸⁾, it is observed that the small intestine has a greater propensity to form lactate from the glucose which reaches it luminally than vascularly; in^(30, 43), it is reported that 55% of the glucose is metabolized and 74% of this into lactate; and in⁽⁴⁴⁾, it is observed that the main pathway of metabolism of glucose by the preparation is by way of lactate. Also, in⁽⁴⁵⁾ studying anaesthetized normal rats, it is found that in rats *in vivo* there is an increased lactate production after glucose ingestion. In diabetic rats after the administration of the glucose bolus, no differences were observed in intestinal lactate production. These data contrast with those in^(36, 46), where it was found that lactic acid formation rises during glucose absorption in the diabetic rat small intestine. We observed that, in both normal and diabetic rats, the maltose bolus was followed by a significant rise in lactate production relative to the values found after the NaCl bolus alone or with glucose. Overall, our results respecting the intestinal metabolism of glucose are in disagreement with those obtained by⁽⁷⁾, who observed no changes in the intracellular metabolism of glucose, and are in agreement with^(5, 27) who observe a decline in intestinal metabolic activity in diabetes.

With regard to alanine production, this was significantly less ($p < 0.05$) in

diabetic rats than in normal rats after both the 4 g/kg b.w. glucose bolus and the 2 g/kg b.w. maltose bolus. Comparing them with an insulin-dependent diabetes model in rats⁽¹⁸⁾, these values of total produced alanine are significantly less ($p < 0.01$) in the present work's type 2 diabetes model (46.53 ± 6.56 and 8.76 ± 0.79 $\mu\text{mol/h}$, respectively). This may be because the proportion of pyruvate dehydrogenase which is active in the presence of insulin is very low⁽³⁰⁾. Nevertheless, as in our diabetes model there is insulin, even though at a lower concentration than in the normal rats, more glucose may be metabolized by the oxidative pathway so that less alanine is produced. This hypothesis may be supported by the results⁽¹⁹⁾ obtained in isolated intestinal preparations perfused *in vitro* coming from insulin-dependent rats, since when insulin was present in the perfusate a decrease was observed in alanine production to values near those observed in normal animals.

Metabolic response of proximal and distal small intestine preparations to the intraluminal administration of maltose

It is well known⁽⁴⁷⁾ that the different parts of the intestine express a certain degree of specialization in so far as their enzymatic and nutrient absorbing capacities are concerned. It has been observed in rats⁽⁴⁸⁾ that the activity of the disaccharidases in the jejunum is greater than in the ileum. It is also known that the production of gastrointestinal factors that constitute the basis of the entero-insular axis show a regional distribution. Thus, for example, GIP is

secreted mainly in the proximal intestine and GLP-1 in the distal intestine⁽⁴⁹⁻⁵⁰⁾. Moreover, the process of inhibition of the α -glucosidases implies that high maltose concentrations arrive in zones which they do not reach physiologically. This set of facts and the absence of data in this model obliged us to carry out experiments not only with the complete small intestine, but also with the proximal and distal sections of the intestine. Our results confirm the observations of⁽⁴⁸⁾, since the increments in portal glucose, which indicate glucose transported from inside the intestine to the blood supply after the digestion of the maltose, were smaller in the distal intestine than in the proximal or the complete intestine. Also, these glucose increments were greater in the preparations from diabetic rats for the complete, the distal, and the proximal intestine preparations, which is in agreement with the increase in disaccharidase activity observed in diabetes⁽²¹⁻²³⁾.

In conclusion, one observes that in this rat model of type 2 diabetes:

- A. *In vivo*, after an oral glucose overload, there were greater increments of blood glucose in the diabetic than in the normal rats, showing the carbohydrate intolerance.
- B. *In vitro*, firstly, in the absence of any intraluminal glucose or maltose administration, no increase in the consumed of glucose was observed, and there was an enhanced lactate production with respect to the normal rats. Secondly, after luminal glucose and maltose administration, no significant changes were observed in glucose absorption, but there was a smaller production of alanine relative to the normal rats.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by a grant from Junta de Extremadura-Consejería de Bienestar Social (PRI.BS. 97/24) and from Comision Interministerial de Ciencia y Tecnología of Spain (Plan Nacional de I+D; Ali98-0706).

REFERENCES

- 1 Tormo MA, Zubeldía MAG, Montero JL, Campillo JE. In vitro study on the contribution of the rat intestine-pancreas to glucose homeostasis. *Diabetologia* 1988;**31**:916-921.
- 2 Caspary WF, Rhein AM, Creutzfeldt W. Increase of intestinal brush border hydrolases. *Diabetologia* 1972;**8**:412-414.
- 3 Nowak TV, Harrington B, Weisbrusch P, Kalbfleisch. Structural and functional characteristics of muscle from diabetic rodent small intestine. *Am J Physiol* 1990;**258**:G690-G698.
- 4 Mayhew TM, Carson FL. Mechanisms of adaptation in rat small intestine: regional differences in quantitative morphology during normal growth and experimental hypertrophy. *J Anat* 1989;**164**:189-200.
- 5 Jamal A, Kellet GL. Regulation of mucosal phospho-fructokinase in the small intestine of the streptozotocin-diabetic rat. *Diabetologia* 1983;**25**:355-359.
- 6 Hanson PJ, Parsons DS. Factors affecting the utilization of ketone bodies and other substrates by rat jejunum: effects of fasting and of diabetes. *J Physiol* 1978;**278**:55-67.
- 7 Westergaard H. Insulin modulates rat intestinal glucose transport: effect of hypoinsulinemia and hyperinsulinemia. *Am J Physiol* 1989;**256**:G911-G918.
- 8 Dudeja PK, Wali RK, Klitzke A, Sitrin MD, Brasitus TA. Correction of enhanced Na⁺-H⁺ exchange of rat small intestinal brush-border membranes in streptozotocin-induced diabetes by insulin or 1,25-dihydrocholecalciferol. *J Clin Invest* 1990;**87**:1755-1762.
- 9 Rossi I, Sánchez Arias JA, Feliu JE. Effect of streptozotocin diabetes on the glycolytic flux and on fructose 2,6-bisphosphate levels in isolated rat enterocytes. *Metabolism* 1990;**39**:882-885.
- 10 Mooradian AD, Morley JE, Levine AS, Prigge WF, Gebhard RL. Abnormal intestinal permeability to sugars in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1986;**29**:221-224.
- 11 Costrini NV, Komaranahalli P, Ganeshappa W, Wallace W, Whalen GE, Soergel KH. Effect of insulin, glucose, and controlled diabetes mellitus on human jejunal function. *Am J Physiol* 1977;**233**:E181-E187.
- 12 Vinnik IE, Kern F, Sussman W. The effect of diabetes mellitus and insulin on glucose absorption by small intestine in man. *J Lab Clin Med* 1965;**66**:131-136.
- 13 Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 1974;**23**:899-895.
- 14 Grodsky GM, Batts AA, Veella LL, Williams NB, Smith DF. Effect of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas. *Am J Physiol* 1963;**250**:638-644.
- 15 Campillo JE, Luyckx AS, Torres MD, Lefebvre PJ. Effect of oleic acid on insulin secretion by the isolated perfused rat pancreas. *Diabetologia* 1979;**16**:267-273.
- 16 Levin SR, Pehlevanian MZ, Lavee AE, Adachi RI. Secretion of an insulinotropic factor from isolated, perfused rat intestine. *Am J Physiol* 1979;**5**:E710-E720.
- 17 Zubeldía MAG, Ropero MF, Nieto M, Tormo MA, Campillo JE. Modelo experimental para el estudio de los aspectos absorbivos, metabólicos y secretores de la unidad funcional intestino-páncreas. *Avances en Diabetología* 1992;**5**:47-54.

- 18 Zubeldía MAG, Tormo MA, Montero JL, Ropero MF, Campillo JE. Effect of glibenclamide on the absorption and metabolism of glucose by the in vitro perfused rat intestine. *Diab Nutr Metab* 1993;**6**:67-70.
- 19 Tormo MA, Zubeldía MAG, Ropero MF, Campillo JE. Effect on insulin and gliclazide on glucose utilization by a perfused intestine-pancreas preparation isolated from diabetic and non-diabetic rats. *Acta Diabetologica* 1994;**31**:151-155.
- 20 Crane RK. Effect of alloxan-diabetes on the active transport of sugars by rat small intestine, in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1961;**4**:436-440.
- 21 Hossain Z, Levison, RA, Englert E. Endocrine induction of small intestinal hexokinase and maltase activity. *Gastroenterology* 1970;**58**:961.
- 22 Caspary WF. The effect of insulin and diabetes mellitus on the digestive-absorptive function of small intestine. *Digestion* 1973;**9**:248-263.
- 23 Olsen WA, Korsmo H. The intestinal brush border membrane in diabetes. Studies of sucrose-isomaltose metabolism in rats with streptozotocin diabetes. *J Clin Invest* 1977;**60**:181-188.
- 24 Thomson ABR, Hotke CA, Weinstein WM. Comparison of kinetic constants of hexose consumed in four animal species and man. *Comp Biochem Physiol* 1982;**72**:A225.
- 25 Leese HJ, Bronf JR. Lactate formation by rat small intestine in vitro. *Biochem Biophys Acta* 1975;**404**:40-48.
- 26 Tormo MA, Zubeldía MAG, Ropero MF, Muñoz Casillas M, Moreno IC, Campillo JE. Experimental streptozotocin-diabetes and intestinal glucose metabolism in the rat, in vivo and in vitro. *Acta Diabetol* 1995;**32**:182-186.
- 27 Porteous JW. Glutamate, glutamine, aspartate, asparagine, glucose and ketone-body metabolism in chick intestinal brush border cells. *Biochem J* 1980;**188**:619-632.
- 28 Nicholls TJ, Leese HJ, Bronk JR. Transport and metabolism of glucose by rat small intestine. *Biochem J* 1983;**212**:183-187.
- 29 Niewoehner CB, Gilboe DP, Nuttall FQ. Metabolic effects of oral glucose in the liver or fasted rats. *Am J Physiol* 1984;**246**:E89-E94.
- 30 Kellett GL, Jamal A, Roberston JP, Wollen N. The acute regulation of glucose absorption, transport and metabolism in rat small intestine by insulin in vivo. *Biochem J* 1984;**219**:1027-1035.
- 31 Mondon CE, Jones IR, Azhar S, Hollenbeck CB, Reaven GM. Lactate production and pyruvate dehydrogenase activity in fat and skeletal muscle from diabetic rats. *Diabetes* 1992;**41**:1547-1554.
- 32 Csaky TZ, Fischer E. Intestinal sugar transport in experimental diabetes. *Diabetes* 1981;**30**:568-574.
- 33 Dudeja PK, Wali RK, Klitzke A, Brasitus TA. Intestinal D-glucose transport and membrane fluidity along crypt-villus axis of streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol* 1990;**259**:G571-G577.
- 34 Fedorak RN, Chang EB, Madara JL, Field M. Intestinal adaptation to diabetes. Altered Na-dependent nutrient absorption in streptozotocin-treated chronically diabetic rats. *J Clin Invest* 1987;**79**:1571-1578.
- 35 Fedorak RN, Gershon MD, Field M. Induction of intestinal glucose carriers in streptozotocin-treated chronically diabetic rats. *Gastroenterology* 1989;**96**:37-44.
- 36 Leese HJ, Mansford KRL. The effect of insulin and insulin deficiency on the transport and metabolism of glucose by rat small intestine. *J Physiol* 1971;**212**:819-839.
- 37 Ramaswamy K, Peterson MA, Flint PW, Whalen GE. Transport of monosaccharides by the small intestine of genetically diabetic mice. *Gastroenterology* 1980;**70**:464-469.
- 38 Burant CF, Flink S, DePaoli AM, Chen J, Lee W-S, Hediger MA, Buse JB, Chang EB. Small intestine hexose transport in experimental diabetes. *J Clin Invest* 1994;**93**:578-585.
- 39 Abumrad NN, Cherrinton AD, Williams PE, Lacy WW, Rabin D. Absorption and disposition of a glucose load in the conscious dog. *Am J Physiol* 1982;**242**:E398-E406.
- 40 Kuyumjian J, Kalant N. Absorption of an oral glucose load in the dog. *Horm Metabol Res* 1986;**18**:587-589.
- 41 Radziuk J. Hepatic glycogen in humans. II Gluconeogenic formation after oral and intravenous administration of glucose. *Am J Physiol* 1989;**257**:E158-E169.
- 42 Björkman O, Eriksson LS, Nyberg B, Wharen J. Gut exchange of glucose and lactate in basal state and after oral glucose ingestion in postoperative patients. *Diabetes* 1990;**39**:747-751.
- 43 Wollen N, Kellett GL. Regulation of glucose homeostasis in rat jejunum by despentapeptide-insulin in vitro. *Gut* 1988;**29**:1064-1069.
- 44 Mallet RJ, Kelleher JK, Jackson MJ. Substrate metabolism of isolated jejunal epithelium conservation of three-carbon units. *Am J Physiol* 1986;**250**:C191-C198.
- 45 Smadja C, Morin J, Ferre P, Girard J. Initial glucose kinetics and hormonal response to a gastric glucose load in unrestrained post-absorptive and starved rats. *Biochem J* 1990;**270**:505-510.
- 46 Anderson JW. Glucose metabolism in jejunal mucosa of fed, fasted, and streptozotocin-diabetic rats. *Am J Physiol* 1974;**226**:226-229.
- 47 Martí A, Fernández-Otero. Stimulation of brush-border enzyme activity along the rat small intestine by misoprostol. *Rev Esp Fisiol* 1994;**50**(21):75-80.
- 48 Creutzfeldt W, Ebert R. New developments in the incretin concept. *Diabetologia* 1985;**28**:565-573.
- 49 Creutzfeldt W, Nauck M. Gut hormones and diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism Reviews* 1992;**8**(2):149-177.
- 50 Caspary WF. The effect of insulin and diabetes mellitus on the digestive-absorptive function of small intestine. *Digestion* 1973;**9**:248-263.

Patología cutánea y diabetes mellitus

E. Pizarro

La patología cutánea está presente hasta en un 30% de pacientes diabéticos. Algunas lesiones reflejan una diabetes mellitus (DM) no diagnosticada, mal controlada o una complicación crónica. Otras se asocian con frecuencia a DM o forman parte, junto a ésta, de una enfermedad generalizada. También pueden ser un efecto secundario del tratamiento farmacológico de la DM.

Un síntoma cutáneo habitual en la DM es el *prurito*. Puede ser generalizado, favorecido por la sequedad cutánea, frecuente en el diabético, o localizado, sobre todo a nivel genital, relacionado generalmente con infecciones fúngicas.

Las infecciones bacterianas de la piel son frecuentes y suelen reflejar DM mal controlada o no diagnosticada. Los diabéticos pueden presentar forúnculos o úlceras infectadas, a veces más extensas y graves que en la población sana. En cambio, la infección de las zonas de inyección de insulina es rara. En el pie diabético, una piel seca y con fisuras favorece la infección bacteriana. El tratamiento debe ser precoz, mediante antisépticos, incisiones locales y/o antibióticos, vía oral o parenteral, según el caso. Una infección infrecuente, muy grave, propia de diabéticos ancianos es la *otitis externa maligna por Pseudomonas*, que puede progresar a celulitis, osteítis y afectación de pares craneales. Debe tratarse mediante antibioterapia a dosis altas y extirpación quirúrgica de las zonas infectadas.

En los diabéticos también son habituales las infecciones por hongos. Muchos adultos con DM no diagnosticada o mal controlada presentan *vulvovaginitis o balanopostitis candidiásicas*, favorecidas por la glucosuria. Su tratamiento es el control de la DM y la aplicación tópica de antifúngicos. *El pie de atleta* también es frecuente y sin tratamiento adecuado, puede sobreinfectarse. Muy rara es la *mucormicosis*, que se da en pacientes con cetoacidosis diabética. Su forma más grave es la

rinocerebral, que afecta las zonas nasal y orbitaria, produciendo necrosis y trombosis vascular. Su elevada mortalidad obliga a un tratamiento precoz mediante antifúngicos vía parenteral y desbridamiento extenso de las áreas afectadas.

La patología cutánea secundaria a las complicaciones crónicas de la DM suele formar parte de la clínica del pie diabético. La macroangiopatía conduce a frialdad y atrofia cutánea, pérdida de vello y distrofia ungueal. La neuropatía reduce la sudoración, favoreciendo la sequedad de la piel. El tratamiento se basa en la prevención y control de las complicaciones crónicas, el cuidado diario de los pies y el tratamiento precoz de cualquier lesión cutánea.

Existe un grupo de lesiones de la piel presentes frecuentemente en diabéticos, aunque sin relación clara con el curso de la DM. *La dermatopatía diabética* presenta máculas hiperpigmentadas, reflejo de una piel atrófica que transparenta la melanina. Son lesiones asintomáticas y de predominio en la región pretibial. Es más frecuente en varones y en presencia de neuropatía. *La necrobiosis lipoidica* está constituida por placas anaranjadas o purpúreas, consecuencia de una piel atrófica que transparenta la dermis y vasos subcutáneos. Suele ser asintomática y localizarse en la zona pretibial. Es muy infrecuente y predomina en mujeres. Puede preceder a la aparición de DM. *Las bullas diabéticas* son ampollas de contenido claro, aparición espontánea y predominio en partes acras. Son infrecuentes y suelen presentarse en diabéticos de larga evolución con neuropatía. Suelen curar en 2-4 semanas mediante reposo y antisépticos, aunque pueden dejar cicatriz o recidivar. *El engrosamiento de la piel del dorso de manos y pies*, presente hasta en 1/3 de diabéticos, puede limitar la movilidad articular, sobre todo la extensión.

Diversas enfermedades cutáneas se asocian a una mayor incidencia de DM.

En el *vitiligo* desaparece la pigmentación cutánea, sobre todo alrededor de los orificios corporales y las superficies de extensión de las extremidades. Un 5% de casos se asocia a DM tipo 1. El *liquen plano* manifiesta pápulas pruriginosas en muñecas, extremidades inferiores y a veces en la cavidad bucal. En un 45% de casos se detecta DM o intolerancia hidrocarbonada. *El granuloma anular* consta de pequeñas pápulas eritematosas, habitualmente en partes acras, que confluyen formando anillos. Suele acompañarse de DM cuando es generalizado.

Algunas patologías incluyen entre sus manifestaciones la presencia de DM y lesiones cutáneas. En la *hemocromatosis* es frecuente la piel seca y atrófica, pigmentada por el depósito de hemosiderina. *La acantosis nigricans*, caracterizada por placas oscuras aterciopeladas en los pliegues cutáneos, se asocia con frecuencia a insulín-resistencia y DM. La *lipodistrofia progresiva* también presenta DM insulín-resistente, junto a lipoatrofia total, cuando es hereditaria, o local, sobre todo de hemicuerpo superior, en el resto de casos.

Una lesión en la piel puede ser un efecto secundario del tratamiento de la DM. *La lipodistrofia insulínica* es la hipertrofia o atrofia de la grasa subcutánea en las zonas de inyección de insulina. Más frecuente en mujeres, se le atribuye un probable origen inmunológico. Se previene mediante la rotación de las zonas de inyección y el uso de insulinas purificadas, empleadas también en la lipodistrofia causada por otro tipo de insulina. *La alergia a la insulina* suele manifestar prurito en el lugar de inyección. Es poco frecuente, suele remitir espontáneamente y raramente es generalizada. *La alergia cutánea a las sulfonilureas* puede manifestarse como una reacción urticariforme o de fotosensibilidad. Requerirá, en caso necesario, el cambio a otro hipoglucemiante oral o a insulina.