



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

ALTERACIONES EN LA COAGULACIÓN
Y FACTORES PROINFLAMATORIOS EN
EL CONTEXTO DE LA DIABETES
MELLITUS TIPO 1



AUTORA: M^a MONTSERRAT MARTÍN ALONSO

SALAMANCA 2015
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y DEL DIAGNÓSTICO
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

El Dr. D. PABLO PRIETO MATOS, profesor asociado de la Facultad de Medicina de Salamanca y la Dra. D^a. SONIA DE ARRIBA MÉNDEZ, profesora honorífica de la Facultad de Medicina de Salamanca

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado “Alteraciones en la coagulación y factores proinflamatorios en el contexto de la diabetes mellitus tipo 1”, que presenta la licenciada en Medicina Doña Montserrat Martín Alonso ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Ciencias Biomédicas y del Diagnóstico y reúne, a juicio de los mismos, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Salamanca a 14 de septiembre de 2015.

Fdo.: Prof. Dr. Pablo Prieto Matos Fdo.: Prof. Dra. Sonia de Arriba Méndez

A TODOS LOS QUE CADA DÍA ME ENSEÑAN ALGO NUEVO

AGRADECIMIENTOS:

A todos mis educadores: los primeros mis padres que me enseñaron un modelo para aprender a ser buenas personas, por todo el tiempo que me dedicaron, me dedican y me dedicarán; a Luis que día a día me enseña algo nuevo y me ayuda a recuperar aquello que pierdo; a mis hijas Lola y Maya por mostrarme la faceta más bonita de mi vida.

A Eduardo Álvarez, Jesús Cedeño, Jesús Prieto, Paquita Manzano, Claudia Sánchez-Villares y todos aquellos que me han guiado en la endocrinología infantil y son mis referentes.

A todos mis maestros en la pediatría y todos los jefes de Servicio que me han animado a seguir en los momentos duros.

A Pablo Prieto y Sonia de Arriba, gracias por orientarme, soportarme, corregirme, estimularme..., sin vosotros dos, nada hubiera sido posible.

Al Dr. José Ramón González Porras, a la Dra. M^a Luisa Hernández Cerceño y a todos sus equipos que no han dudado en prestarme ayuda técnica, intelectual y metodológica.

Al personal de enfermería, administrativos y auxiliares, especialmente a Marivi por ayudarme con las extracciones.

A mis compañeros y amigos “desorientados”, algunos por servirme de espejo en el que reflejarme, a otros por estar cuando os necesito, a otros por quererme tanto, a otros por apoyarme siempre, sois los cinco dedos de mis manos pediátricas.

A mis amigos y amigas de siempre y a los nuevos, por escucharme siempre, por no negarme nunca un minuto de vuestras apretadas agendas, por animarme.

A mis pacientes y a mis controles.

A todos los que se han tomado molestias en relación a mi trabajo, nunca se lo agradeceré lo suficiente.

**TAN SÓLO POR LA EDUCACIÓN PUEDE EL HOMBRE LLEGAR A
SER HOMBRE. EL HOMBRE NO ES MÁS QUE LO QUE LA
EDUCACIÓN HACE DE ÉL.**

Immanuel Kant

ÍNDICE GENERAL



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

**ALTERACIONES EN LA COAGULACIÓN Y FACTORES
PROINFLAMATORIOS EN EL CONTEXTO DE LA DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

<u>ÍNDICE GENERAL</u>	13
<u>ABREVIATURAS</u>	17
<u>INTRODUCCIÓN</u>	25
DIABETES MELLITUS TIPO 1.....	27
Epidemiología.....	27
Etiopatogenia.....	32
Presentación clínica.....	52
Criterios diagnósticos.....	53
Manejo en niños y adolescentes.....	53
Seguimiento.....	66
Estrategias de prevención.....	67
Comorbilidades y complicaciones.....	75
HEMOSTASIA, DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y SISTEMA FIBRINOLÍTICO.....	88
Factor von Willebrand.....	90
Antitrombina III.....	92
Homocisteína.....	94
Fibrinógeno.....	95
Factor inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.....	96

Índice General

FACTORES PROINFLAMATORIOS.....	98
Leptina.....	99
Adiponectina.....	102
Factor de necrosis tumoral alfa.....	104
Interleucina 6.....	105
Proteína C reactiva ultrasensible.....	106
<u>HIPÓTESIS</u>	109
<u>OBJETIVOS</u>	113
<u>PACIENTES Y MÉTODOS</u>	117
Descripción del estudio.....	119
Tablas utilizadas.....	119
Selección de las poblaciones a estudio.....	119
Muestras sanguíneas.....	120
Metodología de las determinaciones analíticas.....	121
Obtención de datos no sanguíneos.....	124
Manejo de datos.....	125
Estudio estadístico.....	125
<u>RESULTADOS</u>	129
Descripción de las muestras.....	131
Circunstancias al debut.....	137
Datos analíticos básicos.....	145

Factores inflamatorios y citocinas.....	153
Coagulación	158
<u>DISCUSION</u>	169
<u>CONCLUSIONES</u>	187
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	193
<u>ANEXOS</u>	231
<u>ÍNDICE DE FIGURAS</u>	249
<u>ÍNDICE DE TABLAS</u>	255

ABREVIATURAS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

Abreviaturas

ADA: Asociación Americana de Diabetes.

ADAMTS-13: proteasa de escisión del factor von Willebrand.

ADP: adenosín difosfato.

ALT: alanina aminotransferasa.

AMP: adenosín monofosfato.

AST: aspartato aminotransferasa.

ATIII: antitrombina III.

ATP: adenosín trifosfato.

BCG: *bacillus Calmette-Guérin*.

BSA: bovine serum albumine.

CAD: cetoacidosis diabética.

CFT: capacidad de fijación de la transferrina.

cm: centímetros.

d: día.

DCCT: Diabetes Control and Complications Trial.

dL: decilitros.

DM1: diabetes mellitus tipo 1.

Abreviaturas

DNA: ácido desoxirribonucleico.

DS: desviaciones estándar.

EDIC: Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications.

EDTA: ácido etildiaminotetraacético.

ESPE: Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica.

FADH₂: flavín adenín dinucleótido.

FBG: fibrinógeno.

FcR: receptor de la fracción c del anticuerpo.

FDA: Federal Drug Administration.

FVIII:C: porción coagulante del complejo VIII circulante en plasma.

FVW: factor von Willebrand.

g: gramos.

GAD: decarboxilasa del ácido glutámico.

GAPDH: gliceraldehído-3 fosfato dehidrogenasa.

h: hora.

HbA1c: hemoglobina glicosilada.

HCN: homocisteína.

HDL: lipoproteína de alta densidad.

HTA: hipertensión arterial.

Hz: hertzios.

IA2: antitirosofosfatasa.

IAA: anti insulina.

IAM: infarto agudo de miocardio.

ICA: anti islotes.

ICA-CF: anti islotes fijadores de complemento.

Ig: inmunoglobulina.

IL: interleucina.

IMC: índice de masa corporal.

IS: índice de saturación.

ISCI: infusor subcutáneo continuo de insulina.

JAMA: Revista de la Asociación Médica Estadounidense.

Kcal: kilocalorías.

kDa: kiloDaltons.

Kg: Kilogramo.

LDL: lipoproteína de baja densidad.

MCG: monitorización continua de glucosa.

Abreviaturas

mcL: microlitros.

mcmol: micromol.

MDI: múltiples dosis de insulina.

mg: miligramos.

mL: mililitros.

mm: milímetros.

mmHg: milímetros de mercurio.

NADH: nicotamida adenina dinucleótido.

NADPH: forma reducida de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

NF- κ B: factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

ng: nanogramos.

NK: natural killer.

NPH: Neutral Protamine Hagedorn.

PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.

PARP: poli(ADP-ribosa).

PCR: proteína C reactiva.

PCR us: proteína C reactiva ultrasensible.

PKC: Protein kinasa C.

PPAR- γ : receptor de peroxisoma-proliferador- activado gamma.

PTPN22: protein tyrosin phosphatase non-receptor type 22.

RNA: ácido ribonucleico.

SUV39H1: histona-lisina N-metiltransferasa.

T4: tiroxina.

TA: tensión arterial.

TAD: tensión arterial diastólica.

TAS: tensión arterial sistólica.

TGC: triglicéridos.

TGF- β : factor de crecimiento transformante beta.

TNF: factor de necrosis tumoral.

TP: tiempo de protrombina.

TSH: hormona estimulante del tiroides.

TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activada.

UDP: uridina difosfato

UGP: unidad grasa-proteínas.

UI: unidades internacionales.

VNTR: número variable de repeticiones en tándem.

INTRODUCCIÓN



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

La diabetes mellitus tipo 1 surge de la destrucción de las células beta del páncreas causando un déficit total o casi total de insulina con la consiguiente afectación del metabolismo hidrocarbonado.

La mayor parte de las veces se encuentra un mecanismo autoinmune en su origen.

El estado de hiperglucemia crónico se asocia a largo plazo con daño, disfunción y fallo de diferentes órganos, especialmente ojos, riñones, sistema nervioso, corazón y vasos sanguíneos. El nexo de unión entre las alteraciones metabólicas y la aparición de posibles complicaciones en DM1 permanece sin clarificar.

EPIDEMIOLOGÍA

Hasta el año 1983, los estudios epidemiológicos sobre DM1 no seguían una metodología estandarizada. Fue a partir de entonces, cuando un grupo de expertos reunido en Filadelfia, creó el Diabetes Epidemiology Research International Group, que sentó las bases de los registros estandarizados de incidencia de DM 1 que abogan por el uso de criterios claros para definir los casos, el empleo sobre una población de estudio bien definida y la utilización de fuentes secundarias para conocer el grado de exhaustividad del registro¹.

En 1988 se inicia el proyecto EURODIAB, estudio cooperativo a nivel europeo, cuyos resultados han sido comunicados en sucesivas publicaciones destacando:

- a) Gran variabilidad geográfica en las tasas de incidencia.
- b) Existencia de un gradiente norte-sur en la incidencia, con tasas mayores en norte y noroeste de Europa, y más bajas en el centro, sur y este, con la excepción de Cerdeña.

c) Tendencia al aumento de la incidencia en los últimos años, siendo este aumento más marcado en el grupo de los menores de 4 años².

A su vez, en 1990, la Organización Mundial de la Salud, pone en marcha el proyecto DIAMOND para estudiar la incidencia mundial de DM1 y su evolución en un plazo de 10 años. Los últimos resultados publicados demuestran los mismos datos que los obtenidos en el proyecto Europeo y definen 5 grupos de clasificación en función de la incidencia (muy baja menos de $1/10^5$ habitantes/año; baja $1-4.99/10^5$ habitantes/año; intermedia $5-9.99/10^5$ habitantes/año; alta $10-19.99/10^5$ habitantes/año; muy alta mayor o igual a $20/10^5$ habitantes/año)³.

Las más altas incidencias de DM1 corresponden a Finlandia⁴ y Cerdeña ($37-65/10^5$ jóvenes menores de 15 años/año), tasas casi 400 veces mayores a las de Venezuela y determinadas regiones de China que tienen las incidencias más bajas ($0.1-0.5/10^5$ jóvenes menores de 15 años/año)⁵.

En 1996, el Grupo de Trabajo de Epidemiología de la Sociedad Española de Diabetes publicó las recomendaciones metodológicas para la realización de estudios de incidencia de DM1 en España mediante registros estandarizados⁶.

A partir de esto, se han desarrollado numerosos estudios epidemiológicos en casi toda la geografía española y se han ido definiendo líneas de trabajo comunes que facilitan la comparación de los resultados obtenidos. Las diferentes tasas de incidencia comunicadas muestran una amplia variabilidad geográfica, que va desde los $11.5/10^5$ habitantes/año del Principado de Asturias⁷ hasta los $27.6/10^5$ habitantes/año de Castilla La Mancha⁸ (figura 1). En España no se evidencia el gradiente norte-sur de incidencia descrito previamente. En algunas comunidades no se ha

observado un incremento significativo de la incidencia de DM1 a lo largo de los últimos 20 años, sin embargo otras, encuentran un incremento similar al observado en el proyecto EURODIAB.

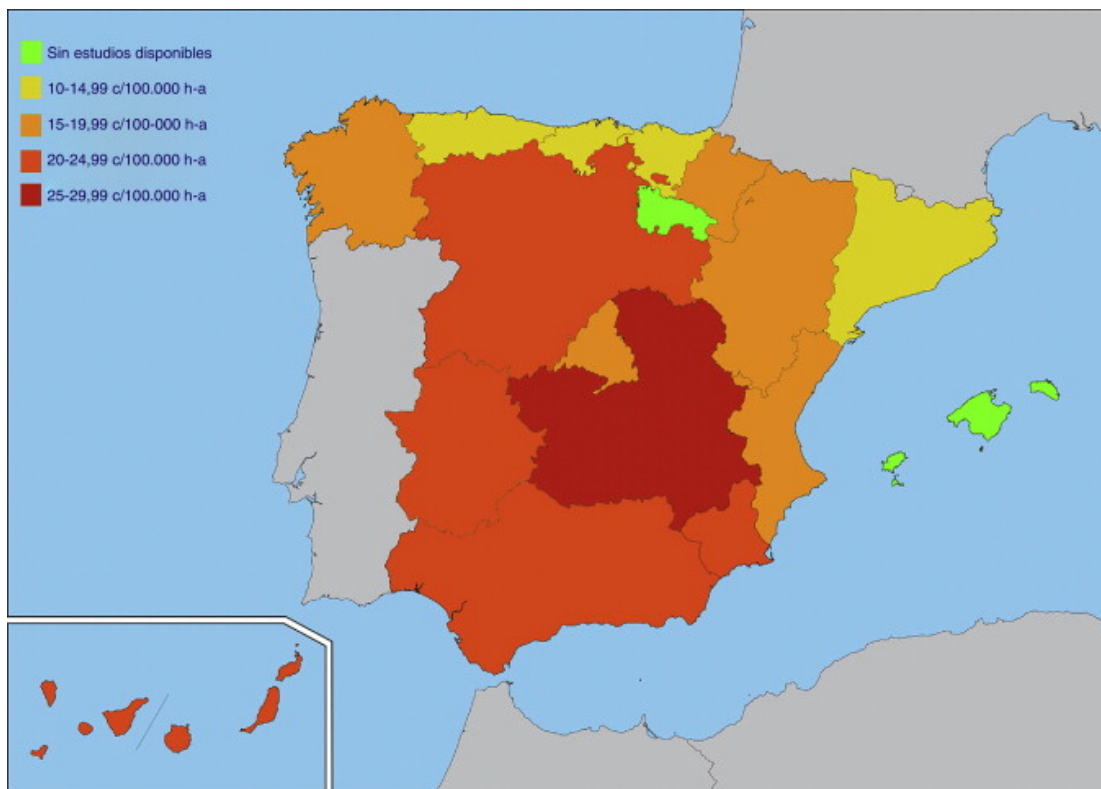


FIGURA 1: Mapa de incidencia de DM1 por comunidades autónomas en menores de 15 años en España. Tomado de epidemiología de la diabetes mellitus tipo 1 en menores de 15 años en España. Conde Barreiro S et al. Anales de pediatría 2014;81:189.e1-189.e12.

La tasa de incidencia de DM1 en Castilla y León se cifra en 22.22/10⁵habitantes menores de 15 años/año⁹. En Salamanca la incidencia media en el periodo 1989-2003 fue cifrada en 16.78/10⁵habitantes menores de 15 años/año¹⁰.

Recientemente se ha publicado un estudio aproximativo de la incidencia global de DM1 en menores de 15 años en España, empleando el porcentaje de población española de 0 a 14 años correspondiente a cada comunidad según los datos del último padrón municipal y los resultados de los

distintos estudios publicados sobre incidencia en las distintas comunidades autónomas. La incidencia media anual obtenida por este método para la población española es de 17.69/10⁵habitantes/año, que sería de las más altas de los países del área mediterránea y comparable a la estimada en países como Bélgica, Holanda y Alemania¹¹.

Respecto a la edad de presentación de DM1 podemos decir que muestra una distribución bimodal, con un pico entre los 4 y 6 años de edad y otro en la pubertad temprana entre los 10 y 14 años¹². En general, un 45% de los niños debutan antes de los 10 años¹³. En cuanto al género, si bien la mayor parte de enfermedades autoinmunes son más frecuentes en mujeres, parece no haber diferencias en cuanto al género en general en la incidencia de DM1 en la infancia¹⁴. Muestra también cierto carácter estacional, así, la mayor parte de los casos se diagnostican en otoño e invierno¹⁵ y haber nacido en primavera se asocia con más probabilidad de padecer DM1¹⁶.

En cuanto a la tendencia actual en la incidencia de DM1 a nivel mundial, se observa un incremento de un 2 a un 5% por año en Europa, Oriente Medio y Australia. En Estados Unidos también parece estar aumentando la incidencia en la mayoría de grupos étnicos y etarios (figura 2). Las razones para este incremento se desconocen¹⁷. Parece que este incremento es mayor en los menores de 4 años¹⁸, aunque esto no se ha demostrado en todas las poblaciones¹⁹.

El mecanismo subyacente que explique esta distribución geográfica y el incremento en las tasas de incidencia de DM1 permanece sin esclarecer, aunque ha sido atribuido a causas ambientales. Cambios genéticos o más hijos nacidos de madres con DM1 no pueden por sí mismo explicar el incremento tan brusco observado en sus tasas de incidencia²⁰.

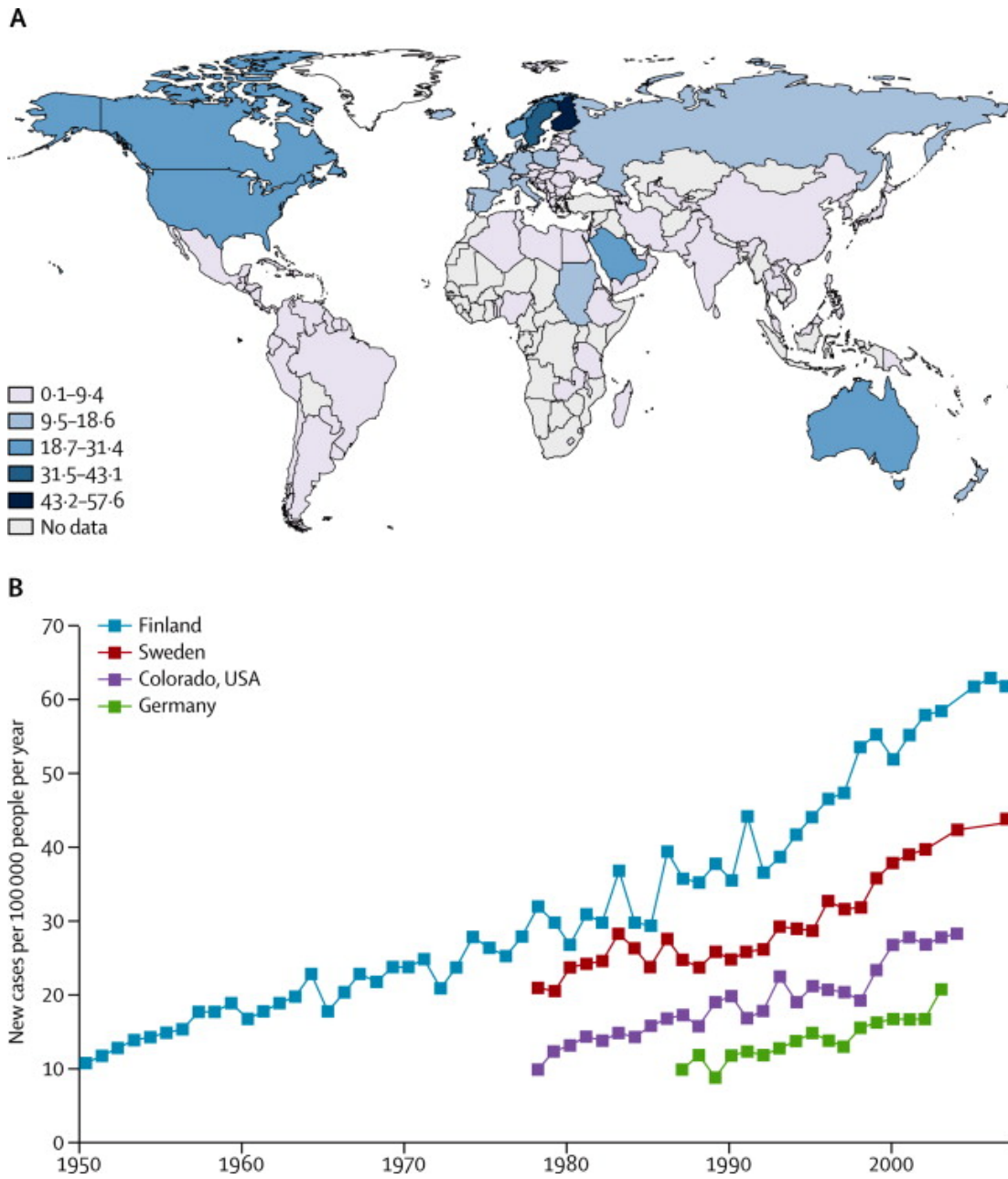


FIGURA 2: Incidencia de DM1 en niños entre 0 y 14 años, por regiones geográficas y a través del tiempo. A) Incidencia global estimada de DM1 por regiones en 2011. B) Tendencias basadas en el tiempo para la incidencia de DM1 en niños entre 0 y 14 años en áreas con tasas altas o intermedias-altas de enfermedad. Tomado de Type 1 diabetes. Mark A Atkinson et al. Lancet 2014;383: 69-82.

ETIOPATOGENIA

Estudios recientes de tejido pancreático, suero y linfocitos de sangre periférica de pacientes con DM1 sugieren que una serie de defectos funcionales en médula ósea y timo, sistema inmune y células beta pancreáticas contribuyen colectivamente a la fisiopatología de la DM1²¹ (figura 3).

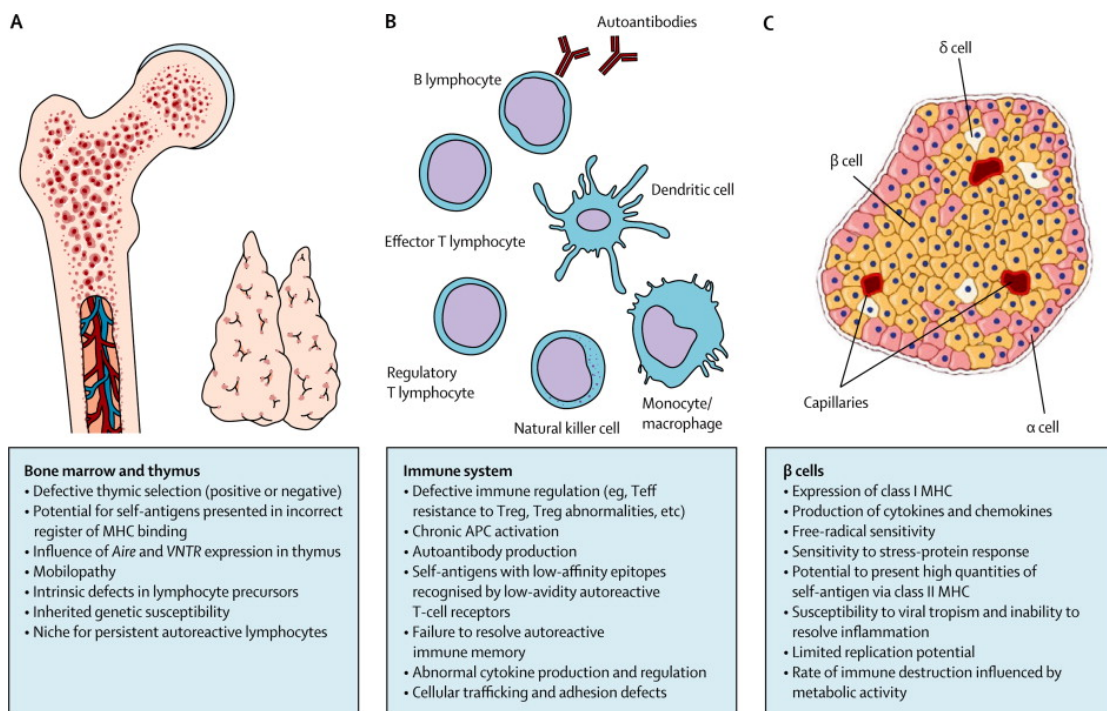


FIGURA 3: Contribución al proceso patológico que subyace en la DM1. Defectos observados en: A) Médula ósea y timo. B) Sistema inmune. C) Célula beta, llevan a pérdida de producción de insulina a través de mecanismos autoinmunes. Tomado de Type 1 diabetes. Mark A Atkinson et al. Lancet 2014;383: 69-82.

Datos recientes sugieren que, aunque la mayoría de los pacientes con DM1 de larga evolución tienen pocas células beta, éstas tienen capacidad de regeneración en niños, no así en adolescentes o adultos²².

El estudio de tejido pancreático de individuos con debut reciente de DM1 muestra que alrededor del 70% de los islotes presenta ausencia completa de

insulina²² y casi el 20% contiene insulina, sin embargo sólo un 1% de los islotes deficitarios de insulina presentan inflamación y muchos otros islotes parecen normales. La lesión de los islotes suele ser lobular como sucede con los melanocitos en enfermos de vitíligo²³. Aunque, a menudo se dice que los síntomas aparecen cuando un 90-95% de las células beta se han perdido, el diagnóstico de DM1 puede ocurrir cuando en torno a dos tercios de los islotes están faltos de células productoras de insulina. Las células T CD8+ constituyen la población más predominante en la lesión de insulitis, seguidas por los macrófagos (CD68+), las células T CD4+, los linfocitos B (CD20+) y las células plasmáticas (CD138+). Sorprendentemente, las células FOXP3 (como es el caso de los linfocitos T reguladores) y las natural killer apenas se encuentran en el foco de insulitis²⁴.

Recientemente se ha destacado el papel del tamaño del páncreas en el desarrollo de la enfermedad, de modo que se ha visto que el páncreas es más pequeño ajustado a edad e índice de masa corporal, en individuos diagnosticados recientemente de DM1 o antes del debut cuando los anticuerpos están presentes²⁵.

Esto hace pensar que existen múltiples mecanismos que llevan a la pérdida de células beta en la DM1.

Introducción

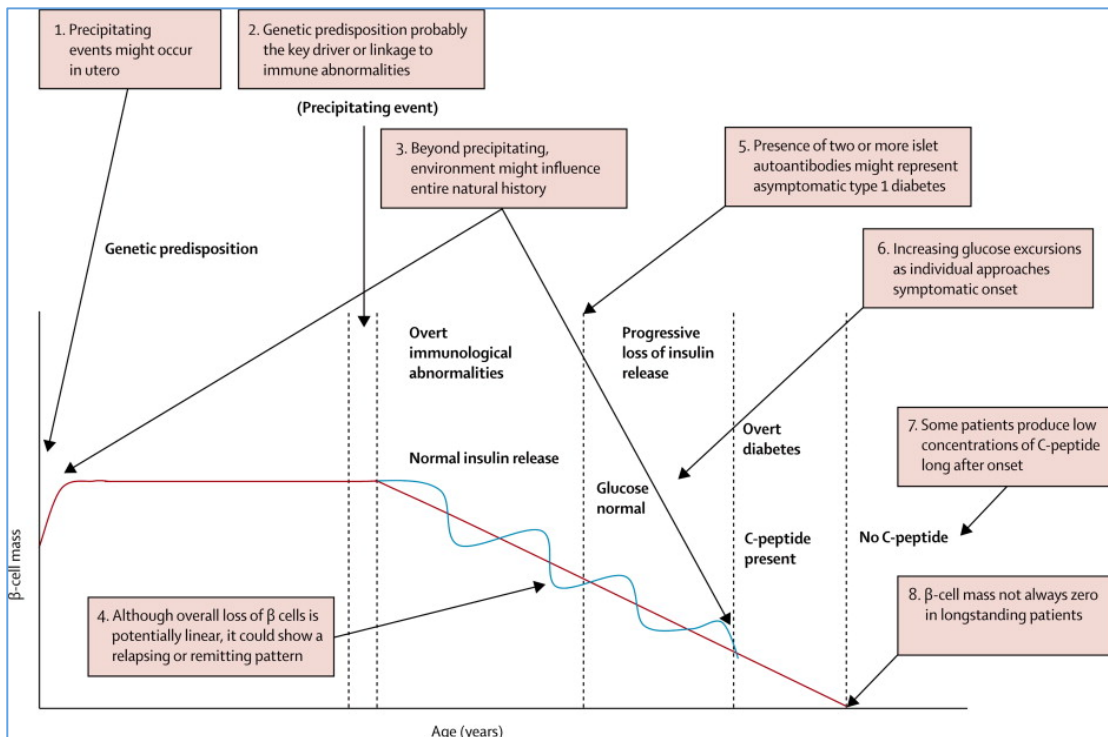


FIGURA 4: Historia natural de la DM1. Tomado de Type 1 diabetes. Mark A Atkinson et al. Lancet 2014;383: 69-82.

En los individuos con riesgo incrementado para el desarrollo de DM1 podemos identificar anticuerpos frente a la insulina, las células de los islotes pancreáticos, la decarboxilasa del ácido glutámico o la tirosinofosfatasa, además de marcadores de riesgo genético, lo que junto con la interacción de determinados factores ambientales pueden ser determinantes para la aparición de la enfermedad (figura 4).

FACTORES INMUNOLÓGICOS:

La destrucción específica de las células beta de los islotes de Langerhans se produce por el efecto patogénico de autoanticuerpos o por un mecanismo linfocito T-dependiente que activaría directamente la inmunidad celular sobre el tejido pancreático.

Por razones aún no bien conocidas, en personas genéticamente predispuestas (DR3 y/o DR4 o DQB3,2), las células beta se pueden volver anormalmente inmunogénicas, estimulando una fuerte respuesta inmune contra varios de sus constituyentes moleculares por medio de las moléculas del HLA que las presentarán a las células T. A la vez, tendría lugar la activación de las células endoteliales de los capilares de los islotes, en cuya superficie igualmente, se expresan fuertemente antígenos de clase II. Así, en respuesta a una agresión ambiental, la célula beta se habría convertido en célula presentadora de antígenos. Respecto al mecanismo de producción existen diferentes teorías:

- Según Botazzo^{26,27}, la célula beta expresaría de forma aberrante moléculas de clase II, comenzando así un proceso lento, en el que es reconocida por linfocitos T cooperadores, con activación de linfocitos B y la consiguiente producción de anticuerpos e interleucina 2, que promueven el crecimiento de clones de células T citotóxicas que producen un estado de insulitis. Para Botazzo, el responsable de la expresión aberrante sería algún agente ambiental.

- Foulis²⁸ sostiene que entre el agente externo y la célula beta como presentadora de antígenos, existe un mediador que es el interferón alfa. Sugiere que el factor ambiental, al agredir al islote, desencadena una liberación de interferón alfa por parte de las células beta, que promueve en todas ellas hiperexpresión de moléculas de clase I (necesarias para ser reconocidas por las células T citotóxicas). En el caso especial de que la agresión fuese en personas genéticamente predispuestas, las células beta promoverían además la expresión de moléculas de clase II²⁸.

- La teoría de Nerup²⁹ se apoya en que, cuando la célula beta es agredida en una persona susceptible, libera antígenos que son presentados por los

macrófagos a los linfocitos T cooperadores, dando lugar a la secreción de citocinas que producen la destrucción celular a través de la producción de radicales libres de oxígeno, muy destructivos para la célula beta porque poseen insuficientes enzimas para inactivarlos. Por otro lado, se activan más macrófagos, monocitos y células NK que liberan interleucina 1 y factor de necrosis tumoral que a su vez llevan a mayor destrucción celular.

Como marcadores de la fase precoz de la agresión autoinmune, se emplean en la actualidad los anticuerpos anti-islotos (ICA), los anti-insulina (IAA), los anti-decarboxilasa del ácido glutámico (GAD) y los anti-tirosinfosfatasa (IA2).

Los niños con DM1 que no tienen autoanticuerpos al debut tienen un grado similar de descompensación metabólica al de los niños que presentan autoanticuerpos, aunque, aquellos que presentan más tipos de anticuerpos positivos parecen tener una destrucción insular más acelerada y unos requerimientos más altos de insulina durante el segundo año de la enfermedad³⁰. La presencia de todos o alguno de estos anticuerpos, aumenta el riesgo para desarrollar diabetes, siendo el riesgo proporcional al número de anticuerpos positivos. Sin embargo, el tener los cuatro anticuerpos no supone necesariamente contraer la enfermedad³¹, igual que tenerlos negativos, no excluye definitivamente el desarrollar diabetes a lo largo de los años³². El riesgo está también en función de las características genéticas del individuo.

-Anticuerpos anti-islotos: identificados en 1974 por Botazzo en el suero de niños de reciente diagnóstico. La formación de anticuerpos frente a antígenos endógenos puede explicarse por varios mecanismos:

1. Aberración del sistema inmunitario

2.Cambio de estructura del antígeno endógeno

3.Incremento en la cantidad del antígeno producido.

Pueden ser detectados muchos años antes de aparecer la clínica. Al diagnóstico suelen estar presentes en un 60-80% de los casos, disminuyendo al 25% transcurrido un año de la enfermedad, posteriormente acaban desapareciendo³³. En la población general sin antecedentes de diabetes se encuentran en un 0.5%.

Dentro de estos se distingue una subclase capaz de fijar el complemento (ICA-CF) que sí serían responsables de la destrucción de la célula beta, y serían los mejores predictores de diabetes a largo plazo. Los ICA-CF aparecen en la circulación más tarde que los convencionales y desaparecen antes.

-Anticuerpos anti-IA2: la proteína neuroendocrina llamada proteína 2 asociada a insulinooma, es una proteína transmembrana con actividad tirosinfosfatasa^{34,35}, que interviene en la transcripción de los genes de los gránulos de insulina y en su exocitosis. Su tamaño es de 37 kDa, es un autoantígeno específico útil como marcador para la predicción de diabetes. Normalmente aparecen más tarde que los autoanticuerpos frente a insulina o anti-GAD y se asocian con altos títulos anti-islole y progresión de la diabetes. La combinación de anti-GAD y anti-IA2 identifica a más del 90% de los futuros casos³⁶.

-Anticuerpos anti-insulina: se detectan al comienzo de la enfermedad y en la fase de prediabetes³⁷. Se considera que no son los que inician el daño celular, pero marcan la velocidad de progresión de la enfermedad. Sus títulos se relacionan inversamente con la edad de aparición de la

Introducción

diabetes^{38,39}. Sus títulos no pueden ser usados como marcadores de diabetes dos semanas después de haber administrado insulina subcutánea³⁷.

-Anticuerpos anti-GAD: la descarboxilasa del ácido glutámico es un antígeno proteico específico de 65kDa. La presencia de anticuerpos frente a esta molécula indica un elevado valor predictivo de riesgo de DM1 y están directamente relacionados con la disminución de la función de la célula beta. Son detectados en el 90% de los niños que desarrollan diabetes y en la mayoría de los prediabéticos, persisten durante mucho tiempo y su desaparición es más lenta que la de los ICA. Cuando son positivos de manera aislada tienen menor valor predictivo y se asocian a una progresión más lenta de la enfermedad⁴⁰.

-Anticuerpos frente al transportador de Zinc (ZnT8): entre un 60-80% de pacientes con reciente diagnóstico los presentan. Además, 26% de sujetos con DM1 y anti-insulina, anti-GAD, anti-IA2 y anti-islole negativos tienen anticuerpos ZnT8. Aparecen más tarde que los anti-insulina⁴¹ y desaparecen muy precozmente tras el debut de la enfermedad⁴².

La presencia de IgG frente a epítomos de autoantígenos de los islotes implica la participación de la célula T en la respuesta inmune. Cada vez hay más evidencia del papel de la inmunidad celular en la patogénesis de la DM1, así lo demuestra la publicación de un caso de DM1 en un niño de 14 años con agammaglobulinemia ligada al X⁴³.

SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA:

Hasta el 15% de los enfermos con DM1 presentan un familiar de primer grado afecto⁴⁴. Se han encontrado marcadas diferencias en el riesgo de padecer la enfermedad según la relación con el diabético índice (tabla 1).

GRUPO	RIESGO (%)
Población general	0.4
Familiares de pacientes	
Padres	3
Descendientes:	6
A) con padre afecto	8
B) con madre afectada	3
Hermanos:	6
A) Gemelo monocigoto	33
B) HLA idéntico	15
C) HLA semiidéntico	5
D) HLA diferente	1

TABLA 1: Riesgo de padecer DM1 en población general y en familiares de pacientes (tabulado según la relación con el caso índice).

Chromosomal Region	Position (cM)	Closest Marker	Lod Score	Sibling Risk Ratio	Lod-1 Interval†	Nominal P Value
2q31-33	192	D2S2167	3.34	1.19	177–204	9.0×10^{-5}
3p13-p14	98	D3S1261	1.52	1.15	78–112	8.2×10^{-3}
6p21	47	TNFA	116.3	3.35	46–48	4.9×10^{-52}
6q21	80	D6S283	22.39	1.56	ND	ND
9q33-q34	150	D9S260	2.20	1.13	138–161	1.5×10^{-3}
10p14-q11	61	D10S1426	3.21	1.12	52–66	1.2×10^{-4}
11p15	2	D11S922	1.87	1.16	0–14	3.4×10^{-3}
12q14-q12	81	D12S375	1.66	1.10	77–83	5.8×10^{-3}
16p12-q11.1	56	D16S3131	1.88	1.17	26–71	3.3×10^{-3}
16q22-q24	108	D16S504	2.64	1.19	100–121	4.9×10^{-4}
19p13.3-p13.2	25	INSR	1.92	1.15	0–43	3.0×10^{-3}

FIGURA 5: Datos de estudios de ligamiento en DM1. Tomado de Genetics of Type 1A diabetes. Patrick Concannon, Stephen S. Rich and Gerald T. Nepom. The New England Journal of Medicine 2009;360: 1646-55.

El motivo de este hecho no termina de estar claro. Se cree que el aumento de riesgo de diabetes en los hijos cuando el progenitor afecto es el padre

frente a cuando es la madre se explicaría por la transmisión preferencial de haplotipos HLA específicos de los padres a sus hijos, o por una mayor frecuencia de recombinación entre asociaciones de locus en la mujer que en el varón durante la gametogénesis⁴⁵.

Las regiones mejor identificadas responsables de esta susceptibilidad genética para DM1 son (figura 5):

1. Complejo mayor de histocompatibilidad: se ha encontrado una región candidata para la DM1 en la región 6p21 donde parecen encontrarse los genes que confieren mayor susceptibilidad para esta enfermedad (llamados *IDDM1*)⁴⁶. Esta región contiene genes que codifican para moléculas de histocompatibilidad de clase II que se expresan en la superficie de células presentadoras de antígeno tales como los macrófagos. Estas moléculas, tienen una cadena alfa y otra beta que forman un lecho de unión peptídica al que los antígenos involucrados en la patogénesis de la DM1 se unen, siendo entonces presentados a receptores de antígeno de las células T que son las principales efectoras del proceso de destrucción autoinmune.

La capacidad de estas moléculas de clase II para presentar antígenos depende de la composición de aminoácidos de sus cadenas alfa y beta. Sustituciones en una o dos posiciones críticas pueden aumentar o disminuir la unión de autoantígenos y por tanto la susceptibilidad para DM1⁴⁷.

Más del 90% de pacientes con DM1 poseen HLA-DR3,DQB1*0201 (también conocido como DR3-DQ2) o -DR4,DQB1*0302 (también conocido como DR4-DQ8), frente al 40% de la población general, es más, cerca del 30% de pacientes tienen ambos haplotipos (DR3/4 heterocigotos), expresión de mayor susceptibilidad⁴⁸.

La prevalencia de este genotipo de alto riesgo es marcadamente más alta en

algunas poblaciones. Como ejemplo, el 8.9% de adolescentes sanos de raza blanca tienen el genotipo DR4,DQ8/DR3,DQ2 y 2.4% de la población general de Denver, Colorado. Aproximadamente el 5% de niños con este genotipo desarrolla DM1 frente al 0.3% de niños de la población general⁴⁹.

Un subgrupo de alelos DR4, tales como DRB1*0403 y DPB1*0402, disminuye el riesgo de desarrollar DM1, incluso con el alelo de alto riesgo DQB1*0302^{50,51}.

Además, el alelo DQB1*0602 confiere protección contra el desarrollo de DM1. Este alelo está presente en casi el 20% de la población general de Estados Unidos, pero sólo en un 1% de niños con DM1. Un estudio prospectivo evaluó 72 familiares de enfermos con DM1 con anti-islote positivos, 75% de los cuales portaba alelos de alto riesgo DQB1*0302 y/o 0201. Desarrollaron diabetes 28 de los 64 sujetos que no tenían el DQB1*0602 frente a ninguno de los 8 pacientes con él⁵².

La base molecular de este carácter protector o inductor de DM1 puede explicarse como hemos dicho anteriormente, por la composición de aminoácidos de sus cadenas, así, se detecta ausencia de ácido aspártico en la posición 57 de la cadena beta del gen DQB1*0302 de los diabéticos. De igual forma se ha sugerido la importancia del residuo 52 de la cadena alfa y la presencia de arginina en esta posición que parece asociada a riesgo elevado de desarrollar DM1⁴⁷.

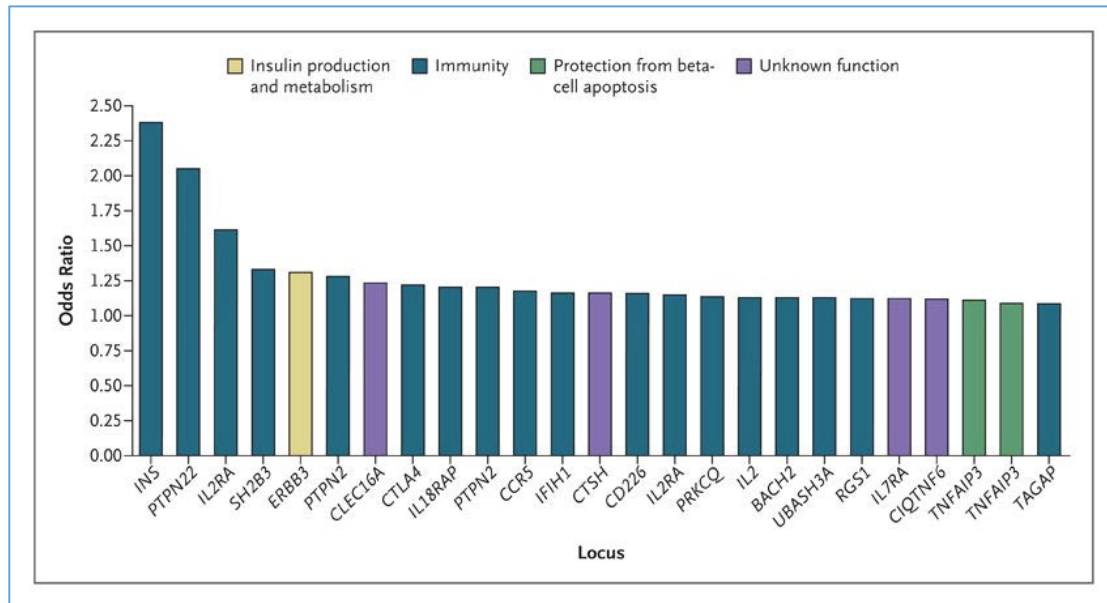


FIGURA 6: Odds ratio atribuibles a regiones no HLA-asociadas en relación con DM1.

Tomado de Genetics of Type 1A diabetes. Patrick Concannon, Stephen S. Rich and Gerald T. Nepom. The New England Journal of Medicine 2009;360: 1646-55.

2. Otros genes: la discordancia observada entre riesgo de DM1 en gemelos homocigotos y hermanos HLA idénticos hace pensar en la existencia de otros genes situados fuera de la región HLA e implicados en la enfermedad (figura 6)⁵³.

Polimorfismos en el promotor del gen de la insulina y un cambio de aminoácido en la tirosinfosfatasa linfocitaria (PTPN22) se asocian con riesgo de DM1 en muchas poblaciones⁵⁴⁻⁵⁷.

De las variantes polimórficas, la región VNTR del gen de la insulina, adyacente al extremo 5' del gen es la candidata a ser IDDM2, y es un locus altamente polimórfico formado por secuencias repetitivas del oligonucleótido "ACAGGGGTGTGGGG", dependiendo del número de veces que se repitan, los diferentes alelos se pueden clasificar en: clase I: alrededor de 40 copias; clase II: alrededor de 95 copias; clase III: alrededor de 170 copias.

Algunos estudios revelan la asociación entre los alelos de clase I y la DM1, pero falta por determinar la relación existente entre el diferente grado de expresión del gen de la insulina y la patogénesis de la diabetes⁵⁸.

Desde el punto de vista funcional, el mecanismo fisiológico por el cual el tamaño de la región VNTR puede influir en el riesgo para desarrollar DM1, podría estar relacionado con un menor nivel de transcripción del gen de la insulina en aquellas personas con alelos de clase I⁵⁹.

El hallazgo de la expresión del gen de la insulina en el timo durante el desarrollo embrionario, ha hecho postular una deficiente inducción a la tolerancia inmunológica a la insulina como determinante de un futuro riesgo de DM1⁶⁰.

Un polimorfismo en el gen del antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos demostró estar asociado con riesgo para DM1 en un metaanálisis de 33 estudios que agrupaban unos 5000 pacientes⁶¹.

El papel de estos otros genes se ha podido evidenciar en estudios en ratones NOD (non-obese diabetic)⁶². Estos ratones desarrollan diabetes autoinmune con grandes similitudes a los humanos. La insulitis empieza alrededor de los 50 días de vida y la diabetes clínica aparece a los 120 días. Las células Th1 (interferón gamma positivas) parecen ser importantes mediadoras de la insulitis en estos ratones, y la destrucción de las células de los islotes puede ser ralentizada con la administración de anticuerpos anti-interferón gamma⁶³. El factor inductor de interferón gamma (también llamado interleucina 18) y la interleucina 12 son potentes inductores de interferón gamma, y la progresión de la insulitis empieza en paralelo con el incremento en la liberación de estas dos citocinas⁶³.

Introducción

Al principio se pensaba que, en contraste con las células Th1, las Th2 (que producen interleucina 4, 5, 10 y 13) protegían contra el debut y la progresión de la DM1. Sin embargo, las células Th2 también son capaces de inducir destrucción de las células de los islotes y, por ello, probablemente, la aparición y progresión de la DM1 estén bajo el control de ambos tipos celulares⁶⁴.

Un subgrupo de linfocitos T reguladores con CD4 y CD25 en su superficie y ausencia de receptor de interleucina 7, depende en su desarrollo de un factor de transcripción llamado FOXP3. Mutaciones en este factor de transcripción se han descrito en casos de autoinmunidad neonatal letal, incluyendo DM1⁶⁵.

La agregación familiar de una enfermedad puede estimarse a partir del cociente entre el riesgo que presentan los hermanos y el riesgo que presenta la población general conocido como coeficiente λ s descrito por Risch en 1990⁶⁶. En DM1 este coeficiente es de 15, ya que el riesgo en hermanos es de 6%, siendo de 0,4% en la población general.

En el caso del locus *IDDM1*, su contribución a la agregación familiar en la DM1 es de 3.1, mientras que para *IDDM2* es de 1.3⁴⁶. A partir de estos valores se ha calculado que la contribución de estos loci al riesgo genético de padecer diabetes es del 42% para *IDDM1* y del 10% para *IDDM2*⁶⁷.

Queda por tanto una proporción importante de genes por estudiar, habiendo sido descritas en el momento actual hasta 40 regiones IDDM que incrementan el riesgo a padecer DM1, pero permanecen muchos sin descubrir.

FACTORES AMBIENTALES:

El hecho de que exista discordancia en la aparición de diabetes en gemelos monocigotos⁶⁸, el aumento en la incidencia de la enfermedad en los últimos años⁶⁹ y la diferencia existente entre la prevalencia en personas de la misma raza que han emigrado a otros países⁷⁰, hace pensar en la intervención de factores ambientales.

Identificarlos resulta complicado por el largo periodo prodrómico entre la activación de la respuesta inmune y el comienzo de la clínica.

Son múltiples los factores que se han descrito implicados en la génesis de la DM1, destacamos los siguientes:

-Tóxicos: compuestos nitrosos (riesgo aumentado de DM1 en hijos de madres que habían consumido al principio del embarazo cordero ahumado) con toxicidad selectiva sobre la célula beta demostrada en animales. También se ha encontrado que la incidencia de DM1 es un 30% superior en áreas con concentraciones de nitrato en el agua de bebida por encima de 14.8 mg/L comparado con áreas con concentraciones por debajo de 3.2 mg/L⁷¹.

-Condicionantes perinatales: en el subestudio 2 de EURODIAB se ha demostrado riesgo incrementado en caso de incompatibilidad de grupo, cesárea, baja edad gestacional, preeclampsia y enfermedad respiratoria neonatal⁷².

-Factores nutricionales: un aumento de peso excesivo durante el primer año de vida y la introducción de fórmulas artificiales antes de los tres meses, condicionan un incremento del riesgo de manera independiente⁷³.

Introducción

El papel de la leche de vaca tampoco está claro, existiendo resultados contradictorios en distintos trabajos. En el suero de personas con DM1, se encuentran anticuerpos contra el péptido ABBOS de la albúmina bovina que tiene cierta homología con la proteína 69 kDa expresada en la superficie de la célula beta pancreática⁷⁴. Este hecho ha permitido establecer la hipótesis de una primera activación de la respuesta inmune por la introducción precoz de la leche de vaca antes de la maduración intestinal, a la que podría seguir una segunda respuesta por reacción cruzada contra la célula beta pancreática. Normalmente, la albúmina bovina se degrada en el tracto gastrointestinal en péptidos pequeños sin capacidad antigénica, pero en los lactantes, el pH gastrointestinal más elevado, produce una incorrecta proteólisis que podría ser la causa de la absorción de péptidos con capacidad antigénica como el ABBOS. Pero estos resultados no han podido ser reproducidos por otros laboratorios⁷⁵, quizá por las distintas características genéticas de las poblaciones estudiadas, así, se observa por ejemplo un predominio de anti-BSA en pacientes HLA DR3.

La asociación de enfermedad celiaca y diabetes en un mismo paciente ocurre con bastante frecuencia, hecho que podría aproximar la relación entre alimentación y diabetes⁷⁶, por el origen autoinmune, el componente genético común de susceptibilidad (DQA1*0501, DQB1*0201) y la modulación clara de la dieta en el desarrollo de ambas enfermedades. Habitualmente la diabetes es la primera en ser diagnosticada, aunque la alteración anatómica intestinal de la enfermedad celiaca esté ya presente. La absorción de péptidos complejos con capacidad antigénica por un intestino inmaduro o previamente dañado, puede ser el mecanismo general de activación autoinmune.

-Vitamina D: su papel como inmunomoduladora también ha sido estudiado en diabetes. Inhibe la proliferación de linfocitos T efectores y la secreción

de citocinas y activa linfocitos T supresores, lo que protege frente al desarrollo de diabetes.

Pequeñas variaciones en la expresión o en la función del receptor de la vitamina D (cuyo gen se encuentra en 12q 13-14) podrían proporcionar diferencias significativas en la regulación de la acción de la vitamina D a nivel de sus tejidos diana⁷⁷.

El EURODIAB constata que la suplementación precoz con vitamina D durante la primera infancia, tiene un efecto protector sobre el desarrollo de DM1⁷⁸.

También se habla del papel protector de los ácidos grasos omega 3, pero falta por desarrollar estudios más amplios⁷⁹.

-Situaciones de estrés: que modularían el sistema inmune aumentando el riesgo a padecer DM1⁸⁰.

-Virus: la distribución temporal del debut de la diabetes, con predominio en los meses fríos, coincide con la máxima incidencia de las infecciones víricas. Así mismo, se ha podido demostrar la presencia de antígenos víricos en los islotes pancreáticos en pacientes con DM1 y una elevada frecuencia de anticuerpos tipo IgM contra virus Coxsackie B en pacientes de reciente diagnóstico⁸¹.

En humanos se ha descrito asociación con virus de la rubeola, parotiditis, Coxsackie B4, Epstein-Barr, Citomegalovirus y retrovirus.

En los niños afectos de rubeola congénita, hasta un 20% desarrollan DM1, en un plazo entre 5 y 20 años⁸².

Introducción

Se registra el doble de casos de parotiditis en los 6 meses previos al debut en pacientes con diabetes que en individuos sanos⁸³.

El mecanismo de lesión de la célula beta por el virus Coxsackie también ha sido estudiado, postulando un efecto citolítico directo en un paciente con un proceso autoinmune ya iniciado^{84,85}, más que un efecto activador de la respuesta inmune propiamente dicha. También se ha hablado de un mecanismo de mimetismo molecular entre el virus y la proteína de la célula beta (homología entre la P2-C del Coxsackie B y la decarboxilasa del ácido glutámico)⁸⁶.

La demostración de genoma vírico específico de citomegalovirus en linfocitos de un 15% de sujetos con diabetes que además son portadores de anticuerpos anti-islote, sugiere que la infección persistente por dicho virus puede asociarse en algunos casos a diabetes de mecanismo autoinmune⁸⁷.

-Vacunas: expertos en patogénesis, autoinmunidad, epidemiología, estadística, vacunas y efectos secundarios relacionados con vacunas, han revisado toda la información existente sobre inmunización y diabetes concluyendo que, si bien, en animales, determinadas vacunas como la BCG, son protectoras contra la DM1, los resultados en humanos no son concluyentes. Así mismo, tampoco se ha podido demostrar que ninguna vacuna aumente el riesgo de adquirir DM1 en humanos. Por todo ello, se cree que no está justificado cambiar el ritmo normal del calendario vacunal en niños⁸⁸.

FACTORES EPIGENÉTICOS:

Cada vez existen más evidencias que sugieren que la epigenética puede regular la compleja interacción entre factores genéticos y factores ambientales en la patogenia de muchas enfermedades.

Además, múltiples estudios han demostrado que, las complicaciones asociadas con la DM1, especialmente la nefropatía, evolucionan a pesar de una normalización de los niveles de glucemia, sugiriendo la existencia de una memoria metabólica.

Se ha asociado la patogenia de la DM1 y sus complicaciones con disregulación en las modificaciones post-transcripcionales epigenéticas de las histonas de la cromatina.

La cromatina constituye un enlace perfecto entre factores genéticos y ambientales, y los cambios epigenéticos en la cromatina tales como metilación de DNA y modificaciones post-transcripcionales de las histonas se relacionan con el nivel de transcripción de los genes⁸⁹.

Muchos estudios han identificado vías metabólicas claves desencadenadas por la hiperglucemia en células diana relacionadas con la inflamación y con las complicaciones de la diabetes^{90,91}.

Existen en la literatura varios intentos de estudiar los mecanismos moleculares responsables de la memoria metabólica. Es el caso de un ensayo consistente en células endoteliales cultivadas en hiperglucemia que muestran incremento en proteínas pro-fibróticas y de la matriz extracelular incluso tras la normalización de la glucosa⁹². Además, muestran una activación mantenida de las vías inflamatorias y del estrés oxidativo⁹³. Otros grupos han demostrado la persistencia de la activación del estrés oxidativo incluso más allá de una semana después de normalizada la glucemia, que puede ser bloqueada con antioxidantes o inhibidores de la NADPHoxidasas⁹⁴.

Estos resultados sugieren una memoria metabólica para la disfunción vascular inducida por la exposición a la hiperglucemia y que el estrés

Introducción

oxidativo puede perpetuar esta memoria mediante la modificación o daño de lípidos esenciales, proteínas y/o DNA⁹⁴. La hiperglucemia y el estrés oxidativo pueden provocar acúmulo de productos finales de la glicosilación avanzada que pueden propagar y amplificar la inflamación local y el estrés oxidativo⁹⁵.

El mecanismo responsable para que esta memoria se sostenga a través de múltiples divisiones celulares no está del todo claro y está suscitando mucho interés en los últimos años.

La activación o represión de la transcripción genética es un proceso dinámico que depende de la participación de complejos proteicos que alteran la estructura de la cromatina a través de modificaciones enzimáticas de la cola de las histonas y a través del remodelado de los nucleosomas⁸⁹.

Las modificaciones post-transcripcionales de las histonas incluyen acetilación de lisina, metilación y fosforilación. Esto con otros factores epigenéticos como metilación del DNA y RNAs no codificantes como los microRNAs, influyen sobre la regulación de la expresión genética sin alterar la secuencia del gen⁸⁹.

La acetilación y desacetilación de la lisina de las histonas se regula mediante enzimas de una forma relativamente rápida⁹⁶. La metilación de las histonas sin embargo se considera más estable y de más larga duración, y es más compleja puesto que los residuos de lisina pueden ser mono, di o trimetilados. La activación o represión de la expresión genética depende no sólo de la modificación de la lisina sino también de la localización del residuo metilado, así, la metilación de la lisina en posición 4 de la histona 3 se asocia con activación del gen (H3K4me) mientras que la de la lisina en posición 9 se asocia con represión (H3K9me)⁹⁷. Así mismo, tanto regiones

codificantes como regiones promotoras pueden ser modificadas, añadiendo otro nivel de complejidad al resultado de la transcripción génica⁸⁹.

La hipermetilación de los telómeros reprime la transcripción⁹⁸ y puede promover la desacetilación y la trimetilación de la lisina en posición 9 de la histona 3 (H3K9me3) mediada por la SUV39H1 lo que estabiliza la represión sobre la transcripción génica. A la inversa, la acetilación de histonas puede evitar la metilación del DNA al inhibir la unión de las metiltransferasas del DNA⁹⁹.

Las acetiltransferasas y desacetilasas de histonas han sido implicadas en la regulación de varios genes claves relacionados con la DM¹⁰⁰. Así la modulación de la actividad transcripcional del NF-κB por las acetiltransferasas de histonas, puede afectar a la expresión de genes relacionados con la inflamación^{101,102}. Así, monocitos cultivados en altas concentraciones de glucosa muestran un incremento en la actividad de las acetiltransferasas de histonas que llevan a la acetilación de la lisina en promotores de genes inflamatorios con el correspondiente incremento en la expresión de dichos genes. Resultados similares se han encontrado en monocitos de pacientes diabéticos¹⁰³.

Dado que la metilación de la lisina de las histonas es más estable, existe gran interés en estudiar su papel en las complicaciones diabéticas y en la memoria metabólica. Estudios epigenómicos con leucocitos de pacientes con DM1 frente controles sanos revelaban un subgrupo de genes en linfocitos de pacientes con DM1 que muestran incremento en H3K9me2 ligado a vías inflamatorias e inmunes asociadas con DM1 y sus complicaciones¹⁰⁴.

Cambios epigenéticos en genes promotores pueden explicar el desarrollo

acelerado de las complicaciones asociadas a la DM1 así como la memoria metabólica que parece persistir incluso después del tratamiento o del control glucémico⁸⁹.

La exposición a estados de hiperglucemia puede guiar a cambios epigenéticos en células diana y la estructura de la cromatina alterada resultante se asocia a modelos de expresión génica persistente relacionados con la patología de las complicaciones micro y macrovasculares de la DM1⁸⁹.

Sin embargo, la DM1 es una enfermedad compleja y otros factores tales como la dislipemia, el estado nutricional y otros factores ambientales pueden cooperar con la hiperglucemia en la influencia sobre la epigenética. Tampoco está claro cómo estos cambios epigenéticos son transmitidos a través de múltiples ciclos celulares. Dado que los mecanismos epigenéticos son generalmente reversibles, representan una oportunidad de intervención terapéutica⁸⁹.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

La DM1 puede presentarse en la infancia de varias formas¹⁰⁵:

1. Síntomas clásicos de diabetes con polidipsia, poliuria y pérdida de peso con hiperglucemia y cetonemia o cetonuria. Hiperglucemia sin acidosis es la presentación bioquímica más común en niños con DM1 en la mayor parte de los estudios. Clínicamente se manifiesta con poliuria cuando se supera el umbral renal para la glucosa (normalmente cuando se superan los 180 mg/dL de glucemia). La glucosuria produce diuresis osmótica e hipovolemia. A su vez, la hipovolemia y la hiperglucemia conllevan a un aumento en la osmolaridad sérica que explica la polidipsia. Como resultado de la hipovolemia y de un catabolismo incrementado se produce pérdida de peso. La media de duración de los síntomas antes del

diagnóstico suele ser de unos 10 días¹⁰⁶. Otras manifestaciones clínicas incluyen candidiasis perineal, alteraciones visuales incluso cataratas¹⁰⁷.

2. Cetoacidosis diabética: es la segunda forma de presentación más frecuente en DM1, con una frecuencia publicada de aproximadamente el 30% (con un rango entre el 15 y el 67% según los estudios)¹⁰⁸. Los síntomas son similares a los de aquellos que debutan sin acidosis pero normalmente más severos. Es más frecuente en los menores de 6 años o en aquellos con un medio socioeconómico más bajo¹⁰⁹.

3. Asintomáticos: esta forma de presentación es menos frecuente y ocurre típicamente en niños con familiares cercanos con DM1¹¹⁰.

CRITERIOS DIAGNOSTICOS

La Asociación Americana de Diabetes definió en 2011 los siguientes criterios diagnósticos¹¹¹ que se mantienen en la última revisión publicada en 2014¹¹²:

- a) Síntomas clásicos de diabetes y glucemia igual o superior a 200mg/dL en plasma a cualquier hora del día.
- b) Dos glucemias plasmáticas en ayunas de al menos 8 horas, iguales o mayores a 126 mg/dL.
- c) Glucemia plasmática igual o mayor a 200 mg/dL 2 horas después de una sobrecarga oral de glucosa (1.75 g de glucosa/kg de peso con una dosis máxima de de 75 g), confirmado en dos ocasiones.
- d) HbA1c igual o mayor a 6.5% siempre que se use un método estandarizado de medida según el Diabetes Control and Complications Trial y confirmado en dos determinaciones.

MANEJO EN NIÑOS Y ADOLESCENTES

El manejo de la DM1 en niños y adolescentes, aunque comparte algunas características con el de la del adulto, tiene sus peculiaridades propias sobre

las que merece la pena incidir porque pueden marcar la evolución de la misma y su pronóstico en el futuro.

1. Pacientes menores de un año: tienen más riesgo de hipoglucemias graves, ya que son más difíciles de detectar y no pueden ser resueltas por ellos mismos. Así mismo, la hiperglucemia mantenida tiene efectos deletéreos sobre el desarrollo cerebral y el aprendizaje, especialmente en menores de 5 años¹¹³. Es por ello, que los objetivos de glucemia cada vez son más estrictos en este grupo de edad, fijando la HbA1c objetivo en valores iguales o inferiores a 7.5% como en el resto de grupos etarios. Otras peculiaridades en este grupo de edad, son los horarios frecuentes de alimentación y la incapacidad de predecir qué van a comer.

2. Pacientes pre-escolares: tienen un aporte de alimentos y niveles de actividad erráticos, lo que puede manejarse mejor con los sistemas de monitorización continua de glucosa y con el uso de bombas de insulina.

3. Pacientes escolarizados: presentan la dificultad del manejo en el medio escolar. Es el momento en el que el niño puede empezar a asumir responsabilidades con el soporte y supervisión de sus cuidadores. Se debe fomentar la participación del niño en las actividades escolares.

4. Pacientes adolescentes: su manejo en el ámbito familiar reforzado con equipos de trabajo a nivel ambulatorio ha demostrado mejoras en el control metabólico¹¹⁴. En estos pacientes también es importante tratar posibles conductas de riesgo. Tienen además mayor riesgo de enfermedades psiquiátricas, depresión y trastornos de alimentación. Hay que trabajar también con ellos en la transición a adultos¹¹⁵.

El estudio prospectivo realizado en Estados Unidos y Canadá en adolescentes y adultos diabéticos sobre la influencia del control glucémico en la aparición de complicaciones, Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), demostró que el tratamiento intensivo disminuye el riesgo a

largo plazo de las complicaciones crónicas aunque incrementa la aparición de hipoglucemias graves¹¹⁶. A partir de esto, el objetivo terapéutico de la DM1 es normalizar los valores de glucemia y HbA1c tratando además de mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Para conseguir estas metas, contamos con métodos innovadores en cada uno de los pilares en los que se basa el tratamiento de la DM1: autocontrol, insulina, dieta y ejercicio físico.

1. MONITORIZACIÓN DE GLUCOSA: el autoanálisis de la glucemia capilar es el arma fundamental para el autoajuste de insulina y la detección de hipo e hiperglucemias. Es una técnica sencilla que proporciona autonomía al paciente. El mayor inconveniente, sobre todo para los niños, es que es una técnica cruenta que produce dolor en las zonas de pinchazo.

Se han subsanado muchos de los problemas que antes existían gracias a la contribución de nuevas aportaciones: tiras reactivas con gran capilaridad que precisan escasa muestra sanguínea, glucómetros capaces de medir en sangre capilar cuerpos cetónicos (beta-hidroxibutirato) además de glucosa, glucómetros con ayuda de bolo que aconsejan al paciente sobre la cantidad de insulina a suministrar en función de la glucemia que presente y la cantidad de raciones de hidratos que pretenda ingerir, teniendo en cuenta los objetivos glucémicos pactados, la insulina residual (sólo en algunos), el índice de sensibilidad y la ratio insulina/hidratos programados.

En 1982 se desarrolló un importante simposio sobre posibles sensores implantables de glucosa sentando las bases de lo que sería el desarrollo de los sistemas de monitorización continua de glucosa (MCG) actuales. Finalmente, en 1999 la Federal Drug Administration (FDA) aprobaba el uso del Continuous Glucose Monitoring System® (CGMS), el primer

Introducción

sistema comercial de MCG. Aunque no aportaba medidas de glucosa intersticial a tiempo real, podía ser descargado en consulta y analizado retrospectivamente. Este tipo de dispositivos no parece mejorar el control glucémico en niños pero tiene un gran valor desde un punto de vista de educación diabetológica y para detectar fluctuaciones e hipoglucemias nocturnas¹¹⁷.

En 2004, Medtronic® obtuvo la aprobación para un nuevo sistema que disponía de alarmas ante hipo e hiperglucemias, conocido como Guardian®, y en julio 2005, del Guardian Real-Time® que ya actualizaba glucemias a tiempo real. Esta nueva generación de dispositivos muestran beneficios clínicos (mejora de HbA1c) en estudios a corto plazo respecto a los métodos convencionales de glucemia capilar cuando son usados en pacientes bien formados y motivados¹¹⁸. También mejoran la satisfacción del paciente al aportar información sobre tendencias ascendentes o descendentes en los niveles de glucemia¹¹⁹.

En 2006 se recibió la aprobación por la FDA para integrar por primera vez en un infusor la MCG. Existe un estudio randomizado que demuestra una mejora de 0.6% en la HbA1c comparado con el tratamiento con múltiples dosis¹²⁰. La frecuencia de hipoglucemias graves fue similar en ambos grupos. Se demostró también menor variabilidad glucémica en el grupo con bomba implementada con el sensor.

La última generación en monitorización constituye un modelo parcial de asa cerrada al contar con un algoritmo de suspensión de la bomba ante detección e incluso predicción de hipoglucemia¹²¹.

Sistemas de asa cerrada están siendo evaluados en cuanto a seguridad y eficacia en la actualidad. Estudios a corto plazo demuestran niveles de

normoglucemia con estos dispositivos y reducción de hipoglucemias nocturnas¹²². También está en desarrollo un dispositivo bihormonal con infusión de insulina y glucagón¹²³.

La incapacidad de detectar las fluctuaciones glucémicas es otra limitación de las tradicionales glucemias capilares. La variabilidad glucémica se relaciona con la aparición de complicaciones agudas y crónicas, con un empeoramiento en la calidad de vida de los pacientes y con una mayor dificultad para la optimización del tratamiento. Recientes estudios además relacionan mayor vulnerabilidad en el desarrollo de la sustancia blanca en niños pequeños con hiperglucemia crónica y amplia variabilidad glucémica¹²⁴. Desde el punto de vista estadístico, las desviaciones estándar que los valores de glucosa se separan de la media serían el “gold standard” de medición de variabilidad glucémica. Sin embargo, el índice MAGE (mean amplitude of glycemic excursions) es probablemente más apropiado para seleccionar los mayores cambios de glucemia y se calcularía como la media aritmética de las diferencias entre picos y valles consecutivos detectados en una monitorización continua de glucosa intersticial¹²⁵.

2. INSULINOTERAPIA: En la actualidad el régimen más usado de insulino terapia es el intensivo, que comprende tanto el sistema de múltiples dosis de insulina (comprendiendo un tipo de insulina con perfil basal y otro con acción rápida) como la bomba de infusión continua de insulina.

Estudios controlados como el DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) muestran en adolescentes mejora en el control glucémico con la terapia intensiva comparado con la terapia convencional (que empleaba una o dos dosis de insulina fija incluyendo mezclas de insulina) y además una reducción de la incidencia de secuelas a largo plazo. Como ejemplo, en 195 adolescentes que participaban en el DCCT, la terapia intensiva disminuyó

el riesgo de retinopatía (RR 0.53, 95% CI 0.1 to 0.78), descendió la media de glucemia diaria (177 ± 31 frente a 260 ± 52 mg/dL) y redujo los niveles de HbA1c¹²⁶, esta misma mejora se ha demostrado también en niños¹²⁷.

El campo de la insulino terapia ha sufrido mejoras desde su descubrimiento en 1921-1922 en dos aspectos: nuevas moléculas que se adaptan mejor al perfil fisiológico y nuevos sistemas de aplicación tanto en la modalidad de múltiples dosis de insulina (MDI) como en la de infusión subcutánea continua de insulina (ISCI).

A) Tipos de insulina:

A.1. De acción rápida (tabla 2): Estas insulinas se administran antes de las comidas según su tiempo de inicio de acción, y la cantidad se ajusta a los carbohidratos que se vayan a ingerir así como a los niveles de glucemia de los que parta el paciente. Es el tipo de insulina que emplean las bombas de infusión continua de insulina. Nuevas insulinas con absorción más rápida y cuyo efecto comienza antes permitiendo al paciente realizar la ingesta casi inmediatamente después a la aplicación del bolo. Además el pico de acción de las mismas también es más precoz, evitando las oscilaciones en los niveles de glucemia postprandial, al hacer coincidir el pico de insulinemia con el punto máximo de absorción de los hidratos de carbono.

MOLÉCULA	INICIO DE ACCIÓN	PICO DE ACCIÓN	DURACIÓN
Regular	30min	2-4h	5-7h
Aspártica	15min	2.5h	4h
LisPro	10min	1-2h	3-4h
Glulisina	5min	2h	2-5h

TABLA 2 : Insulinas de acción rápida

A.2. De acción lenta (tabla 3): los análogos de acción prolongada han ido mejorando tanto en su perfil farmacodinámico (menor variabilidad intra e interindividual respecto a NPH) como en su aspecto farmacocinético con un menor pico de acción (lo que disminuye el riesgo de hipoglucemias por sumación de acciones), mayor duración (lo que favorece la aplicación de la misma por parte del paciente) mejorando su calidad de vida y el cumplimiento terapéutico.

MOLÉCULA	INICIO DE ACCIÓN	PICO DE ACCIÓN	DURACIÓN
NPH	1-3h	5-7h	8-13h
Detemir	1-2h	6-8h	16-18h
Glargina	1-2h	4-5h	20-24h
Degludec	1-2h	0	24-48h

TABLA 3: Insulinas de acción lenta.

B) Preparados comerciales: existe una única concentración en España para todas las insulinas, 1mL=100UI (aunque próximamente se comercializarán presentaciones con mayor concentración para aquellos individuos con altas necesidades de insulina 1 mL=300 UI y 1 mL=200 UI) y sólo dos tipos de preparados:

B.1. Plumitas precargadas: prácticamente todas las insulinas se dispensan como bolígrafo (tabla 4) y requieren el uso de agujas desechables de diversa longitud según el grosor de la piel del paciente, desde 4 mm (de reciente aparición), 5 mm, 6 mm, 8 mm hasta 12,7 mm. Pueden usarse también como vial, si bien, una vez usados de esta forma quedarán inutilizados como plumas. Existen nuevos modelos que aseguran la administración de medias unidades como es el caso de la pluma Penfil Echo® de Novo Nordisk® y el de la Junior STAR® de Sanofi®.

Introducción

B.2. Viales (tabla 4): sólo unas pocas insulinas se dispensan como vial. Requieren el uso de jeringas desechables de diversos tamaños según las necesidades insulínicas del paciente, desde 30 UI ideales para pacientes pediátricos (con divisiones de medias unidades para niños más pequeños o divisiones de unidades completas), pasando por 50 UI ó 100 UI. El uso de jeringas permite hacer mezclas de insulinas, pero esto sólo es posible con NPH.

MOLÉCULA	PLUMA	VIAL
Regular	Actrapid Innolet®	Actrapid® Humulina Regular®
Aspártica	Novorapid Flexpen® Novorapid Penfil Echo®	
LisPro	Humalog KwikPen®	Humalog vial®
Glulisina	Apidra SoloSTAR® Apidra JuniorSTAR®	Apidra®
NPH	Humulina NPH KwikPen® Insulatard FlexPen®	Humulina NPH® Insulatard®
Detemir	Levemir FlexPen® Levemir Penfil Echo®	
Glargina	Lantus SoloSTAR® Lantus Junior STAR®	Lantus vial®

TABLA 4: Preparados comerciales disponibles en España

En muchas partes del mundo la falta de acceso a la insulina sigue siendo un problema¹²⁸, así, en Mozambique, la esperanza de vida para un niño diagnosticado de DM1 es de 7 meses¹²⁹. Afortunadamente, organizaciones como International Diabetes Federation, Life for a Child, Insulin for Life y otras, están desarrollando programas para acabar con estas desigualdades.

C) Sistemas de infusión subcutánea continua de insulina: Su uso en la población pediátrica se ha incrementado en los últimos años, de modo que, en 2006 se reportaron más de 35000 pacientes menores de 21 años en Estados Unidos que utilizaban bomba de insulina¹³⁰. La Asociación Americana de Diabetes (ADA), la Sociedad Europea de Endocrinología Pediátrica (ESPE) y otros, establecieron como indicaciones para el tratamiento con bomba de insulina, poseer alguna de las siguientes¹³¹: hipoglucemias graves recurrentes, amplias fluctuaciones en los niveles de glucemia, mal control de la diabetes, complicaciones microvasculares y/o factores de riesgo para las macrovasculares, buen control metabólico con adaptación difícil del régimen de tratamiento al estilo de vida del paciente. Otras situaciones en que la bomba podría ser útil son: lactantes y niños pequeños con bajas necesidades de insulina, adolescentes con trastornos de alimentación, embarazadas, individuos con tendencia a la cetosis y atletas de competición. El consenso sobre la utilización de ISCI confirma que puede ser apropiada en cualquier tramo de edad pediátrica siempre que exista un adecuado soporte familiar y profesional¹³². Un ensayo controlado randomizado con 32 niños demostró que la terapia con bomba reducía los niveles de HbA1c comparado con MDI (7.2 frente a 8.1%)¹³³. Un metaanálisis concluyó una disminución de las hipoglucemias severas en niños que usan bomba comparados con los que usan MDI¹³⁴. Se ha observado pues, que su uso conlleva una mejoría en las oscilaciones glucémicas, un descenso de la HbA1c en torno a 0,4-0.9%, una reducción en la glucemia media diaria y en la glucemia basal, una disminución en los requerimientos diarios de insulina y en el número de hipoglucemias graves, mejorando al mismo tiempo la calidad de vida de los pacientes¹³⁵. Sus mayores inconvenientes son un mayor coste y requerir formación previa. En España existen tres casas comerciales que ofrecen dispositivos ISCI, los

Introducción

de última generación son: Minimed 640G® (Medtronic MiniMed®), Animas 2020® (Novalab®) y Accu-Chek Spirit® (Roche®) (tabla 5).

	Accu-Chek Spirit® (Roche®)	Animas 2020® (Novalab®)	Minimed 640G® (Medtronic®)
BOLUS			
*Mínimo (UI)	0.1	0.05	0.025
*Máximo (UI)	25	35	75
*Incrementos (UI)	0.1	0.05	0.025
*Normal	SI	SI	SI
*Cuadrado	SI	SI	SI
*Dual	SI	SI	SI
*Ayuda	SI	SI	SI
BASAL			
*Mínimo (UI/h)	0.1	0.025	0.025
*Máximo (UI/h)	25	25	75
*Incrementos	0.1	0.025	0.025
*Temporal	En %	En %	En % y UI
ALARMAS			
*Sonido/Vibración	SI	SI	SI
*Oclusión	SI	SI	SI
*Batería baja	SI	SI	SI
*Poca insulina	SI	SI	SI
*Glucemia límite	NO	SI (con sensor)	SI (con sensor)
*Tendencias	NO	SI (con sensor)	SI (con sensor)
*STOP ante hipo	NO	NO	SI (con sensor)
OTROS			
*Telemática	Smart Pix®	Diasend®	Carelink®
*Pantalla color	NO	SI	SI

TABLA 5: Últimos modelos de ISCI en el mercado español

Los sistemas de infusión subcutánea continua de insulina permiten establecer distintos perfiles basales ajustados a la actividad de cada día o reducir o aumentar de forma temporal la basal establecida mediante lo que se conoce como basal temporal.

Así mismo, ofrecen distintas modalidades para suministrar los bolos de insulina: bolo normal (administración de la dosis fijada en un espacio corto de tiempo), bolo cuadrado o extendido (se ajusta la dosis a administrar y el tiempo en el que ésta se suministra), bolo dual o mixto (tiene una parte de bolo normal y otra de bolo cuadrado).

La información sobre administración de insulina, frecuencia de cambio de cánula y distribución de los bolos pre-comida en el tiempo, puede ser descargada de la bomba.

3. DIETA: La alimentación en el niño diabético debe tener la misma distribución que la del niño no diabético.

A) Hidratos de carbono: lo ideal es que tengan bajo índice glucémico (área de incremento de glucemia de un alimento concreto comparado con el del pan blanco), como es el caso de los vegetales y legumbres. También es deseable que la carga glucémica del alimento sea baja (producto del índice glucémico del alimento por la cantidad de hidratos de carbono del mismo). Los alimentos con alto índice glucémico y alta carga glucémica inducen un aumento en el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria que a su vez se relaciona con un aumento en la grasa visceral y en la aparición de enfermedad coronaria. A pesar de un control estricto en la cantidad de hidratos de carbono, es posible la aparición de episodios de hiperglucemia en pacientes diabéticos, por ello se ha desarrollado y validado el índice insulínico, para predecir la demanda de insulina generada por un alimento

en adultos sanos¹³⁶. Es un concepto similar a los de índice y carga insulínica pero en lugar de referirse al incremento en la glucemia producido por la ingesta del alimento se basa en el incremento de los niveles de insulina en sangre.

En la glucemia postprandial influye además la glucemia del control previo, de manera que glucemias más altas generan un estado de insulinoresistencia (glucotoxicidad)¹³⁷.

B) Grasas: los ácidos grasos libres que se derivan de su catabolismo generan insulinoresistencia y aumentan la salida hepática de glucosa. Las grasas además retrasan el vaciado gástrico y disminuyen la liberación de incretinas¹³⁸. Con lo cual, podemos deducir que las grasas aumentan la glucemia horas después de su ingesta, por lo que se necesita aportar insulina a las 2-3 h de la misma, por lo que estaría indicado un bolo dual en la terapia con ISCI.

C) Proteínas: también aumentan la glucemia postprandial a las 2,5-5 h de su ingesta.

No existen pues alimentos libres y lo que debemos es aprender a manejarlos. El efecto de las grasas y las proteínas es aditivo y además, las proteínas tienen un efecto protector en la aparición de hipoglucemias¹³⁹. La unidad grasa-proteínas (UGP) equivale a la cantidad de alimento que contiene 150 Kcal en forma de grasas y/o proteínas y precisa la misma cantidad de insulina que una ración de hidratos de carbono. El cálculo del bolo prandial se llevaría a cabo teniendo en cuenta las raciones de hidratos y las unidades grasa-proteínas presentes en el alimento a ingerir. En terapia con ISCI se emplearía un bolo dual cuya parte de bolo normal cubriría las raciones de hidratos y la parte de bolo extendido las unidades grasa-proteínas; en general, se recomienda que si el alimento contiene una UGP esta parte de bolo se programe para 3 h, para 4 si contiene dos UGP, para 5 si contiene tres o para 8 si contiene más de tres. En terapia con múltiples

dosis deberíamos aplicar dos bolos, uno antes de la ingesta y el otro a las 2 h aproximadamente de la misma. Debemos saber no obstante, que se trata de un dato empírico que hay que individualizar según la respuesta del paciente.

4. EJERCICIO: El ejercicio físico del paciente diabético debe ser diario, regular, preferiblemente aeróbico y de 45 a 90 minutos de duración.

Lo ideal es realizar controles de glucemia capilar antes y después de la actividad física y antes de acostarse para evitar hipoglucemias nocturnas inducidas por ejercicio¹⁴⁰.

A) Antes del ejercicio: lo ideal es estar entre 100-250 mg/dL, en caso de estar por debajo se recomienda ingesta de hidratos y retrasar la práctica del ejercicio, en caso de estar por encima sin cuerpos cetónicos con hidratación y aplicación de un 50% del bolo corrector pertinente podría llevarse a cabo la actividad.

B) Durante el ejercicio: en ejercicios prolongados se recomienda la ingesta de 1-1,5 g de hidratos de carbono/ kg de peso/ h de ejercicio y en pacientes no entrenados, reducir los aportes de insulina un 20-50%.

C) Después del ejercicio: es conveniente extremar el control glucémico y aportar hidratos de carbono acompañados de proteínas para evitar las hipoglucemias retardadas. Si el ejercicio ha sido intenso, se podría hacer un descenso de la dosis de insulina en 20-30%.

En caso de pacientes con ISCI se recomienda el uso de basales temporales a la mitad de dosis el doble de tiempo que dure el ejercicio comenzando desde 30-60 minutos antes del mismo y terminando 30-60 minutos después del mismo.

5. TERAPIAS FUTURAS: tras el diagnóstico de DM1 y la estabilización metabólica, algunos pacientes mantienen la capacidad de producir insulina endógena. Aunque esta secreción endógena está alterada es importante mantenerla dado que se asocia a menor riesgo de retinopatía y menos hipoglucemias graves en periodos más avanzados de la enfermedad¹⁴¹. Por ello, preservar la secreción de insulina tras el debut es un objetivo terapéutico que puede implicar el uso de terapia intensiva, nuevas tecnologías o inmunointervención para frenar la destrucción de la célula beta. El análisis de las concentraciones de péptido C tras el debut, muestra que la pérdida es más rápida en el primer año tras el diagnóstico que en el segundo¹⁴². Como medidas para preservar la célula beta o incluso estimular su regeneración, se están probando varios fármacos, todos ellos, en fase de investigación¹⁴³.

SEGUIMIENTO

La frecuencia de las visitas debe individualizarse según las necesidades del niño y la familia. Serán más frecuentes durante la fase inicial de educación, ante cambios de terapia y cuando los ajustes de dosis sean más necesarios con vistas a mejorar el control glucémico. Las visitas de seguimiento debieran ser al menos cada tres meses y deberían incluir:

1. Examen físico (vigilar el crecimiento y la ganancia de peso que orientarán sobre si la cantidad de insulina es insuficiente o excesiva), presión arterial, estado puberal (para anticipar los posibles cambios en los requerimientos de insulina), exploración de la presencia de bocio, revisar los sitios habituales de inyección, un examen general de los ojos también es necesario aunque sin dilatación de la pupila el rendimiento de esta técnica exploratoria como screening es pequeño por empezar la retinopatía en la periferia de la retina, revisión de extremidades especialmente en mayores

de 10 años para supervisar la movilidad articular y la presencia o no de neuropatía periférica.

2. Pruebas complementarias: HbA1c cada 3 meses, cociente albúmina/creatinina en primera micción de la mañana cada año empezando en niños mayores de 10 años o una vez transcurridos 5 años desde el debut (es normal por debajo de 30 mg/g), anticuerpos específicos de enfermedad celiaca al debut y repetirlos cada 2-3 años o si existen síntomas sugerentes (incluyendo como tales, hipoglucemias inexplicables), perfil lipídico a partir de los 10 años o antes si existen factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (si el LDLc menor de 100 mg/dL repetirlo cada 5 años; si no, anualmente. Si el control glucémico es malo, con HbA1c mayor de 9%, repetirlo cada 2 años), función tiroidea cada 1 ó 2 años o si hay datos que hagan pensar en alteración de la misma.

ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN

El mayor conocimiento de la patogénesis de la DM1, ha hecho posible considerar pautas de intervención con vistas a enlentecer el proceso autoinmune para intentar retrasar o incluso prevenir el debut de la enfermedad.

Estudios de prevención primaria en individuos con riesgo genético de DM1 pero sin autoanticuerpos, se han enfocado en modificaciones dietéticas en los primeros años de vida, para intentar prevenir el debut de la enfermedad. Así, un estudio finlandés estudió 230 niños con un familiar de primer grado con DM1, aleatorizándolos para recibir fórmula hidrolizada o convencional cuando no era posible la lactancia materna durante los 6-8 primeros meses de vida. Los niños que recibieron la fórmula hidrolizada desarrollaron menos autoinmunidad comparados con los que recibieron fórmula convencional¹⁴⁴. Otro ensayo retiró la insulina bovina de la fórmula láctea y

Introducción

demonstró menos progresión (comparado con niños que recibieron fórmulas convencionales) en el desarrollo de anticuerpos insulares tras tres años de seguimiento¹⁴⁵.

Los estudios de prevención secundaria se centran en individuos con múltiples autoanticuerpos insulares pero sin hiperglucemia manifiesta para tratar de retrasar el debut de la enfermedad. Así, un ensayo con individuos con al menos 2 autoanticuerpos insulares (siendo uno de ellos los anti-insulina) y con un familiar de primer grado con DM1, demostró que la insulina oral que les fue suministrada no retrasaba la progresión a una diabetes manifiesta, pero posteriormente se sugirió que individuos con altos títulos de anti-insulina se beneficiaron del tratamiento pues se demostró que retrasaron el debut de la enfermedad hasta 5 años¹⁴⁶.

Actualmente no existen agentes aprobados para frenar la destrucción autoinmune de las células beta tras el diagnóstico. Se ha tratado de inducir inmunotolerancia frente a la célula beta mediante el uso de autoantígenos o inmunosupresión. Desgraciadamente tras resultados prometedores en ensayos en fase 1-2 en pacientes con reciente diagnóstico, los ensayos en fase 3 son desalentadores en la mayor parte de los casos. La combinación de terapias que impliquen varias vías patogénicas y mejoren la viabilidad de la célula beta pueden ser necesarios.

INMUNOMODULADORES

Azatioprina: es un inmunosupresor que inhibe o previene la respuesta de la célula T al antígeno. En un estudio randomizado doble ciego de 46 pacientes tratados con azatioprina y glucocorticoides, la insulina podía ser interrumpida en 10 de 20 pacientes tratados en comparación con 2 de 20 pacientes en el grupo placebo. La secreción de insulina endógena también

mejoraba. Sin embargo, sólo tres pacientes tratados permanecía en remisión al año¹⁴⁷.

Micofenolate mofetilo (Cellcept): inhibe la proliferación de linfocitos T y B. En un estudio randomizado multicéntrico, 126 pacientes con DM1 de 3 meses de evolución como máximo, fueron randomizados en tres grupos: tratamiento con micofenolato, micofenolato más daclizumab o placebo. Tras dos años, no hubo diferencias significativas en la media del área bajo la curva para niveles de péptido C, por lo que no se mostró enlentecimiento en la progresión de la destrucción de la célula beta¹⁴⁸.

Ciclosporina: ensayos en pacientes de reciente diagnóstico en Francia y Canadá mostraron que las remisiones fueron dos veces más frecuentes en los pacientes tratados con ciclosporina comparados con los del grupo placebo. Aunque estas remisiones duraban más, casi todos los pacientes requerían insulina de nuevo en 3 años¹⁴⁹. Un análisis de los pacientes reclutados mostró que los sujetos IA2 negativos respondían mejor a la ciclosporina que los IA2 positivos¹⁵⁰.

Anticuerpos anti-CD3: en ratones NOD (non obese diabetic) el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti CD3 (OKT3) revierte la DM1¹⁵¹. Sin embargo, su uso en humanos es problemático por los efectos secundarios mediados por TNF α . El mecanismo de acción no está del todo claro, pero parece afectar a la dinámica de las células T reguladoras.

Teplizumab: es un anticuerpo monoclonal que contiene la región de unión de OKT3 con una modificación en la región CH2 que altera la actividad de unión de FcR. En un estudio de pacientes con DM1 de reciente diagnóstico se asignó de manera randomizada un grupo a infusión de teplizumab durante 14 días y otro a un grupo sin tratamiento, la producción de insulina

se mantuvo durante un año en 9 de los 12 pacientes tratados y sólo 2 de los 12 pacientes del grupo control. Los valores de HbA1c y los requerimientos de insulina fueron más bajos en el grupo tratado. Los efectos secundarios incluían fiebre, anemia y exantema¹⁵². Estudios posteriores han demostrado mayor efectividad en preservar la secreción de insulina cuando el teplizumab se administra de manera precoz en el curso de la enfermedad¹⁵³.

Otelixizumab: es otro anticuerpo monoclonal antiCD3 humanizado. Un ensayo multicéntrico con 80 pacientes con DM1 de reciente diagnóstico los aleatorizó en un grupo placebo y otro con otelixizumab durante 6 días consecutivos, con los siguientes resultados: función residual de célula beta mejor en el grupo tratado a los 6, 12 y 18 meses, requerimientos de insulina incrementados en el grupo placebo, en el subgrupo de pacientes con función residual de célula beta igual o por encima del percentil 50, la dosis media de insulina a los 18 meses fue de 0.22 UI/kg/d en el grupo de tratados frente a 0.61 UI/kg/d en el grupo de placebo, efectos adversos, como fiebre, exantema y síndrome mononucleósico, se asociaron a la administración del otelixizumab pero fueron transitorios¹⁵⁴. En otro estudio de seguimiento durante una media de 48 meses de 64 pacientes tratados seis días con otelixizumab se demostró que el efecto de éste perduraba, de modo que hubo un retraso en el incremento de los requerimientos de insulina en el grupo tratado (+0.09 comparado con +0.32 UI/kg/d en el grupo placebo)¹⁵⁵.

Rituximab: es un anticuerpo monoclonal anti-CD20, poco estudiado en enfermedades con una patogénesis mediada por inmunidad celular, sin embargo, quizás marque el inicio de nuevas estrategias terapéuticas para DM1, particularmente en combinación con secretagogos de insulina o/y otros inmunomoduladores. Se cree que puede reducir la producción de citocinas proinflamatorias que incrementarían la respuesta inmune en el

páncreas. También es posible que la presentación de antígenos necesaria para la activación de los linfocitos T se vea de algún modo afectada por el rituximab.

Inhibidores de IL1: la IL1 contribuye a la patogénesis de la DM1, por lo que se puede deducir que su inhibición prevendría la destrucción de la célula beta. Sin embargo, ensayos randomizados en monoterapia con ankira (antagonista del receptor de IL1) o canakinumab (anticuerpo monoclonal humano anti IL1) no fueron efectivos en mantener la función de la célula beta¹⁵⁶.

Timoglobulina: existe en la actualidad un estudio en fase 2 respaldado por el Immune Tolerance Network y el TrialNet, cuyos resultados preliminares demuestran que la globulina antitimocito mejora la secreción de insulina endógena.

Inmunoterapia DAB486-IL2: se trata de IL2 conjugada con toxina diftérica, diseñada para actuar sobre las células T activadas, de modo que su infusión conseguiría enlentecer el progreso de la insulinitis al destruir las células T que invaden los islotes¹⁵⁷.

Inmunoterapia GAD65: consiguió enlentecer la progresión de la enfermedad en ratones NOD¹⁵⁸, sin embargo, un ensayo randomizado en humanos no mostró diferencias en cuanto a concentraciones de péptido C y requerimientos de insulina a largo plazo¹⁵⁹.

Otros: abatacept, BCG, DiaPep277, esplenocitos de donante..., entre otros, han sido estudiados pero nada respalda aún su uso en humanos como medida preventiva de DM1.

ANTIINFLAMATORIOS

Inhibidores de TNF α : el factor de necrosis tumoral alfa es una citocina implicada en el proceso inflamatorio agudo y puede jugar un papel importante en la patogénesis de la destrucción de la célula beta en la DM1. El etanercept es un receptor recombinante para TNF α que bloquea su actividad biológica. Un ensayo mostraba menor HbA1c y mayor nivel de péptido C en pacientes de reciente diagnóstico tratados con etanercept frente a los tratados con placebo¹⁶⁰.

Interferon α : los interferones son citocinas inmunomoduladoras multifuncionales que pueden tener efecto en la cascada de citocinas incluyendo propiedades antiinflamatorias. En un ensayo de 12 meses con interferón α 2a recombinante humano frente a placebo en 128 pacientes de reciente diagnóstico, los pacientes tratados con interferón mostraron menor porcentaje de pérdida de péptido C, pero no hubo diferencias en HbA1c ni en requerimientos de insulina¹⁶¹.

SUPLEMENTOS

Nicotinamida: en animales protege frente al daño químico o autoinmune de la célula beta. Se cree que actúa como un secuestrador de radicales libres o mediante el reemplazo de una coenzima que promueve la reparación del DNA. Un metaanálisis de 1996 de 10 ensayos randomizados con un total de 211 pacientes con DM1 de reciente diagnóstico, encontró que la producción de insulina endógena se prolongó con nicotinamida aunque no se consiguió la remisión en ningún paciente¹⁶². Sin embargo, no se ha mostrado efectiva en el ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial) que estudió 552 individuos de edades comprendidas entre los 3 y los 40 años con un pariente de primer grado con DM1,

anticuerpos anti-islote positivos, y con test de tolerancia a la glucosa no diabético, se aleatorizaron en dos grupos, nicotinamida o placebo. Después de una media de seguimiento de 3,3 años se observó que el riesgo de desarrollar diabetes fue similar en ambos grupos¹⁶³.

Vitamina D: se demostró su efecto protector en un estudio caso-control llevado a cabo en 7 países europeos¹⁶⁴ y en un estudio de cohorte de unos 10000 niños seguidos desde el nacimiento, demostrando que, los niños que tomaban regularmente vitamina D (2000 UI diarias) se protegían frente al desarrollo de DM1 (RR 0.22)¹⁶⁵. Sin embargo, en un estudio observacional de los niveles de péptido C en ayunas en niños con DM1 de reciente diagnóstico, la exposición a vitamina D estaba inversamente asociada a los niveles de péptido C¹⁶⁶.

Ácidos grasos poliinsaturados omega-3: pueden tener efecto modulador sobre la respuesta inflamatoria. Un déficit de aporte de estos grasos, característico de muchas dietas occidentales, puede predisponer a aumentar las reacciones inflamatorias y por ello incrementar el riesgo de enfermedades autoinmunes. En un estudio, el incremento en el aporte de omega-3 se asociaba con una reducción de respuesta de anticuerpos anti-islote en niños con riesgo genético incrementado de DM1. Se encuentra en marcha un ensayo de prevención primaria con ácido docosahexanoico.

Un resumen de los estudios de prevención en marcha, con los principales hallazgos y la fase en la que se encuentran, se muestra en la tabla 6.

	Fase y año	Principales hallazgos
Insulina APL (NBI-6042)	Fase 2 2009	No existen cambios en la respuesta metabólica (medida como preservación de péptido C)
Anti-CD20 (rituximab)	Fase 2 2011	Preservación de las concentraciones de péptido C al año pero no diferencias con placebo a los dos años
Anti-CD3 (teplizumab)	Fase 3 2011	Aunque estudios en fase 2 demostraban preservación de péptido C, ensayos en fase 1 no mostraban cambios por lo que el estudio se detuvo
CTLA4 (abatacept)	Fase 2 2011	La modulación de la célula T enlentecía la disminución de la función de la célula beta durante 2 años, aunque la preservación del péptido C sólo se observaba durante 6-9 meses
Anti-CD3 (otelixizumab)	Fase 3 2011	Aunque estudios en fase 2 mostraban preservación de péptido C, un ensayo en fase 3 no mostraba cambios en la respuesta metabólica
GAD65 (Diamyd)	Fase 3 2012	Estudios en fase 2 demostraban preservación en péptido C sin mejoría en las necesidades de insulina. Dos ensayos en fase 3 no encontraban hallazgos valorables
HSP60 (DiaPep277)	Fase 3 2012	Ensayos en fase 2 sugieren incremento en las concentraciones de péptido C, un ensayo en fase 3 advirtió preservación de péptido C al año pero sólo en adultos con DM1

TABLA 6: Estudios de prevención en DM1.

COMORBILIDADES Y COMPLICACIONES

En cuanto a las comorbilidades, el peso y la talla deben ser vigilados puesto que, a pesar de que la mayoría de los niños con DM1 tienen un crecimiento normal, el pobre control glucémico se asocia con pobre ganancia de peso y talla y/o retraso de la maduración ósea y puberal¹⁶⁷. Aunque raro, en estos casos puede aparecer un Síndrome de Mauriac caracterizado por talla baja, retraso puberal, hepatomegalia y esteatosis y características cushingoides¹⁶⁸.

También existe riesgo incrementado de enfermedades autoinmunes, especialmente tiroiditis y enfermedad celiaca. Se ha descrito que la enfermedad celiaca actúa como factor de riesgo independiente para el desarrollo de retinopatía y nefropatía en pacientes con DM1, en un estudio multicéntrico llevado a cabo en Alemania y Austria (DPV)¹⁶⁹. Así mismo se ha descrito la asociación entre DM1 e hipotiroidismo especialmente en mujeres por lo que es importante su cribado y tratamiento precoz en caso de diagnosticarse¹⁷⁰. En este caso se ha demostrado en animales que, la suplementación hormonal mejora la disfunción endotelial asociada a la DM1¹⁷¹.

En niños y adolescentes con DM1 las complicaciones más frecuentes son la hipoglucemia, la hiperglucemia, la cetoacidosis diabética y los trastornos psiquiátricos. La depresión es más prevalente en niños y adolescentes con DM1 que en la población general. Es más frecuente en el primer año tras el diagnóstico y en adolescentes, especialmente en las mujeres¹⁷². Se asocia con peor control glucémico y complicaciones de la diabetes¹⁷³. Los adolescentes con DM1 presentan también mayor riesgo para desarrollar trastornos de conducta alimentaria: ayuno, vómitos autoinducidos, abuso de diuréticos, omisión voluntaria de dosis de insulina (“diabulimia”)¹⁷⁴.

Introducción

La patogénesis de las complicaciones vasculares a largo plazo, incluyendo retinopatía, nefropatía, neuropatía y enfermedad cardiovascular, se inicia en la infancia, aunque las manifestaciones clínicas suelen aparecer en la edad adulta. El mecanismo por el que un peor control metabólico predispone a estas complicaciones no está bien determinado pero se cree que puede influir el acúmulo de productos glicosados y sorbitol, combinado con la respuesta del órgano diana que incluye activación de citocinas y proteína-kinasa C¹⁷⁵.

El DCCT establecía que la hiperglucemia era el desencadenante del daño tisular en diabetes (figura 7), pudiendo estar influido éste por determinantes genéticos de susceptibilidad individual y por factores aceleradores independientes tales como la HTA¹¹⁶.

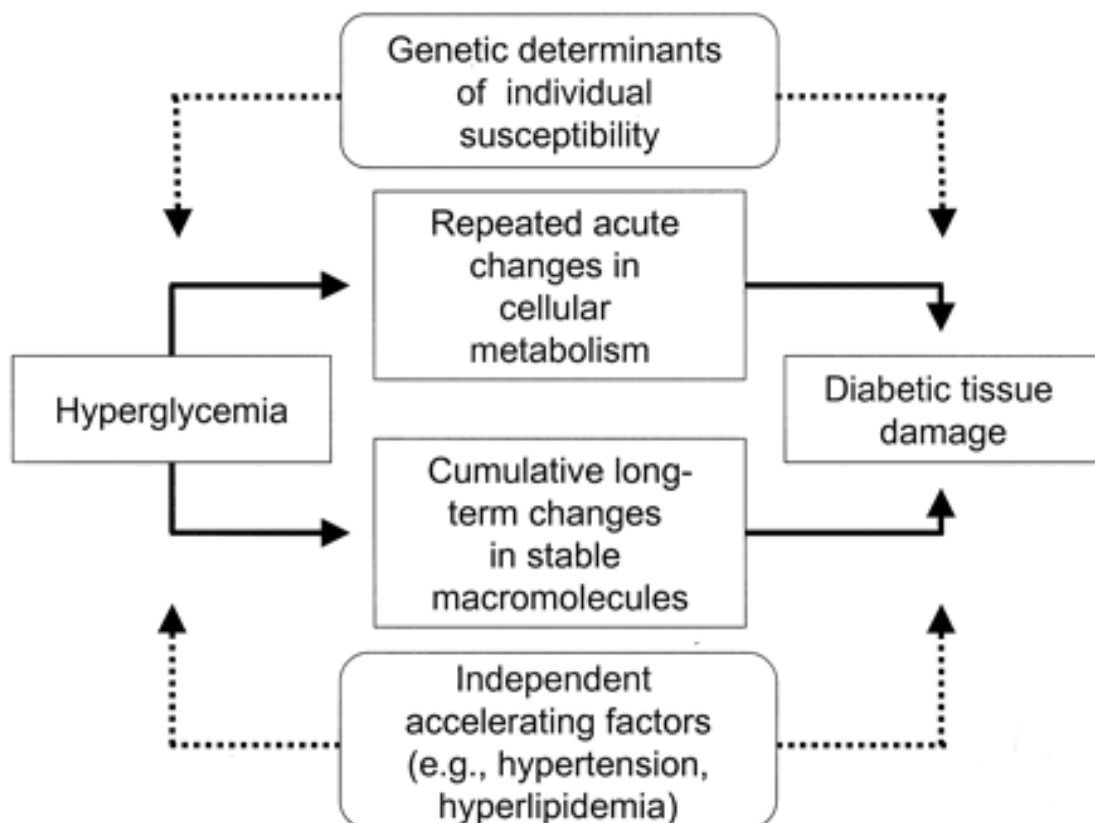


FIGURA 7: Generalidades del daño tisular inducido por hiperglucemia. Tomado de Michael Brownlee. *Diabetes* 2005;54: 1615-25.

El daño provocado por la hiperglucemia afecta a las células endoteliales de la retina, las células mesangiales del glomérulo y las neuronas y células de Schwann de los nervios periféricos¹⁷⁶. La mayoría de las células son capaces de reducir el transporte de glucosa a su interior cuando están expuestas a hiperglucemia, aquellas que no pueden hacerlo de forma eficiente son las que resultan dañadas en estados de hiperglucemia¹⁷⁷. Esto traduce que la causa de las complicaciones implica mecanismos intracelulares.

El primero de estos mecanismos descrito fue el de la vía de los polioles¹⁷⁸. La aldosa reductasa reduce aldehídos tóxicos a alcoholes inactivos. Cuando la concentración de glucosa se incrementa en el interior de la célula, también reduce ésta a sorbitol que es posteriormente oxidado a fructosa consumiendo NADPH¹⁷⁹, cofactor esencial para regenerar un antioxidante intracelular: el glutatión reducido. Al disminuir éste, la vía de los polioles incrementa la susceptibilidad al estrés oxidativo intracelular (figura 8).

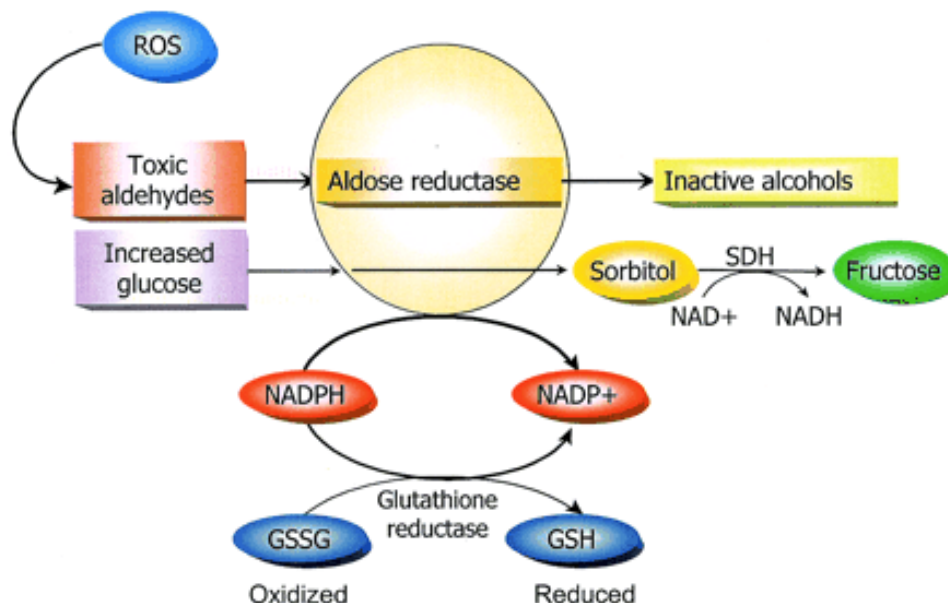


FIGURA 8: Incremento de la vía de los polioles inducida por hiperglucemia. Tomado de *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Brownlee M.

Nature 2001, 414: 813-20.

Introducción

Estudios en perros diabéticos tratados con inhibidores de la aldosa reductasa demostraron prevenir la neuropatía asociada a la diabetes¹⁸⁰.

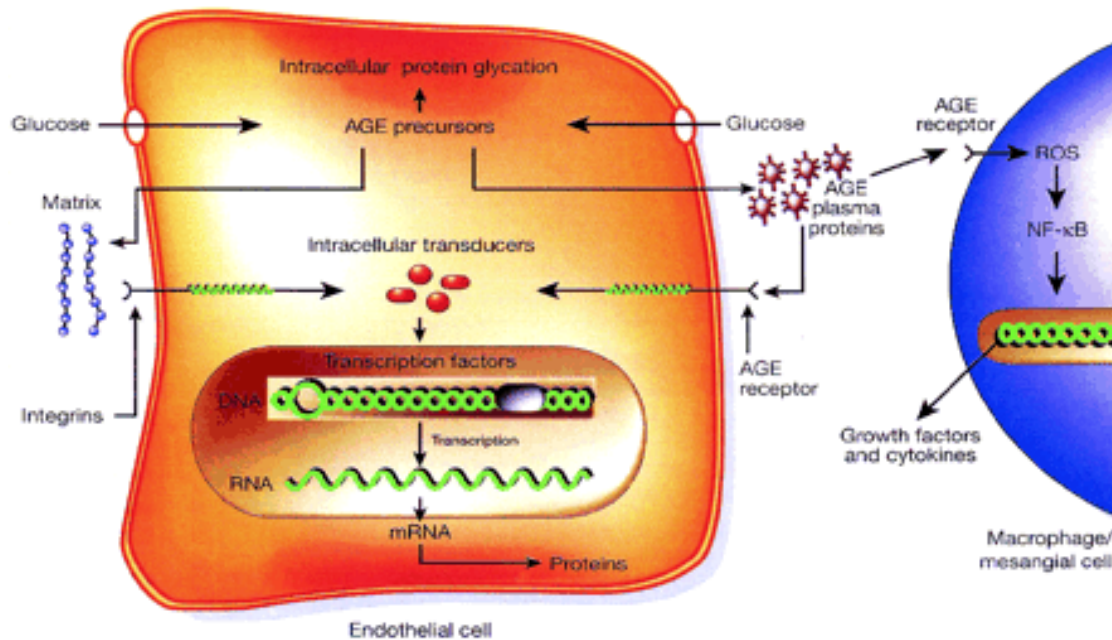


FIGURA 9: Incremento de productos finales de glicación avanzada y sus consecuencias patológicas. Tomado de *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Brownlee M. Nature 2001, 414: 813-20.

Unos diez años más tarde se describió un segundo mecanismo que asocia la elevación de la concentración de glucosa intracelular con la aparición de complicaciones: la síntesis aumentada de productos finales de la glicación avanzada que dañan las células mediante tres vías (figura 9). Una sería la modificación de proteínas intracelulares tales como aquellas implicadas en la regulación de transcripción de genes¹⁸¹. Otra sería mediante la difusión de estos productos finales de la glicación avanzada hacia el exterior de la célula modificando moléculas de la matriz extracelular que cambia la señalización entre la matriz y la célula y causa disfunción celular¹⁸². La tercera vía sería la difusión de estos productos finales de glicación avanzada hacia fuera de la célula modificando proteínas circulantes en la

sangre tales como la albúmina. Estas proteínas circulantes modificadas pueden después unirse a receptores de productos finales de glicación avanzada y activarlos, promoviendo así la producción de citocinas inflamatorias y factores de crecimiento implicados en patología vascular¹⁸³. Estudios en animales muestran que, la inhibición farmacológica de estos productos finales de glicación avanzada, previene la retinopatía¹⁸⁴.

A finales de los 80 y principios de los 90 una tercera pieza del puzzle fue descubierta: la activación de la proteína quinasa C (PKC) inducida por hiperglucemia (figura 10). La hiperglucemia intracelular incrementa la síntesis de diacilglicerol que es un cofactor activador para las isoformas de la PKC beta, delta y alfa¹⁸⁵. Esta activación de la PKC influye sobre la expresión de ciertos genes, por ejemplo, la óxido nítrico sintetasa disminuye, mientras que la endotelina 1, el TGF- β y el PAI-1 se incrementan¹⁷⁶. Estudios en animales muestran que la inhibición de la PKC previene los cambios precoces en retina y riñón en diabéticos¹⁸⁶.

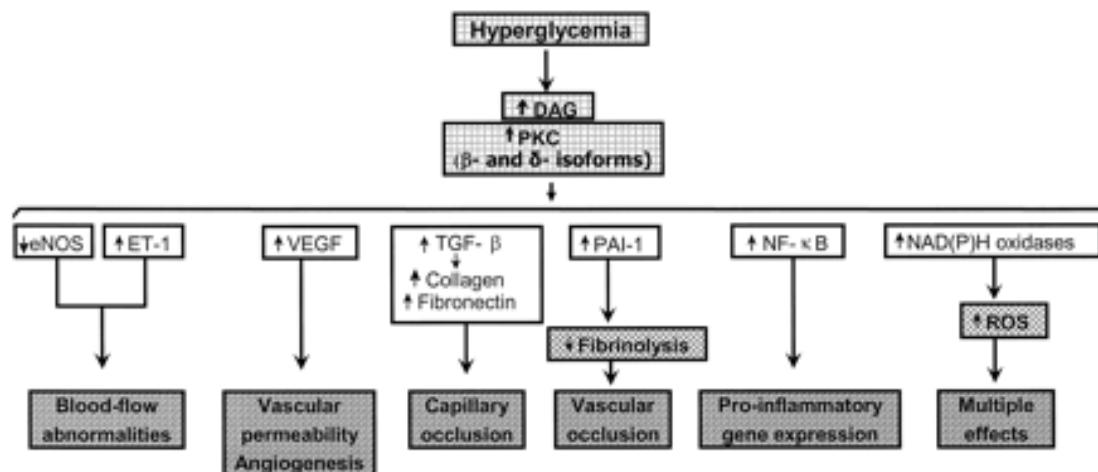


FIGURA 10: Activación de la protein kinasa C inducida por hiperglucemia. Tomado de Pathobiology of diabetic complications. Brownlee M. Diabetes 2005, 54: 1615-25.

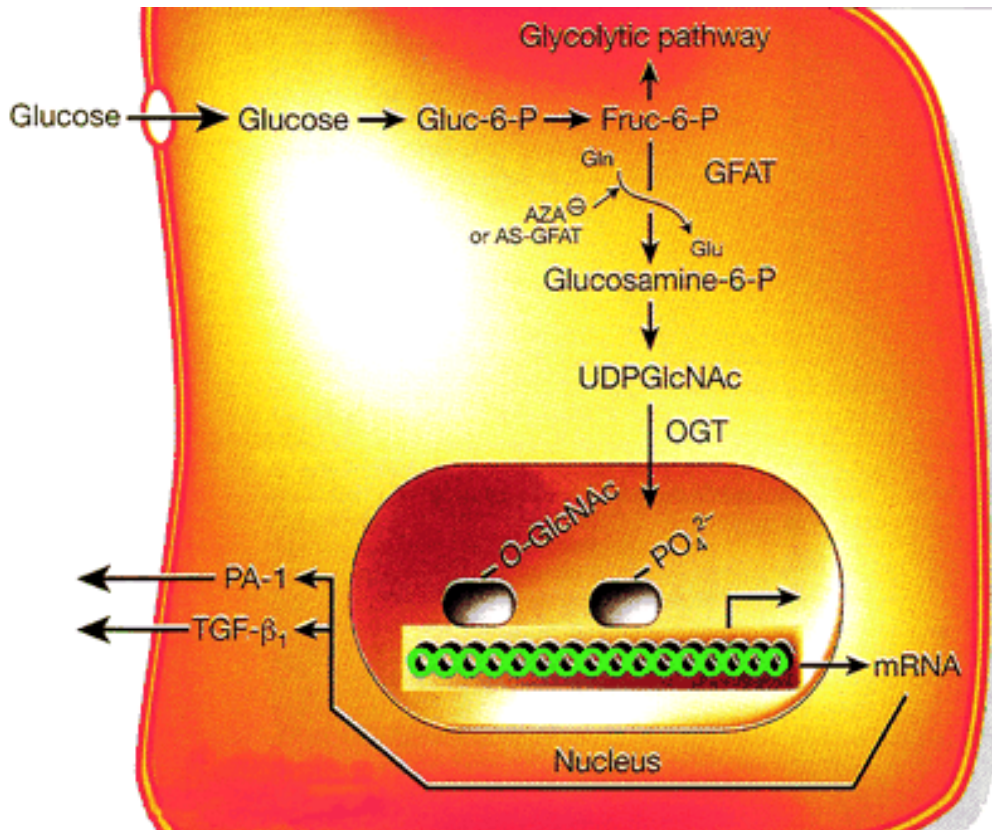


FIGURA 11: La hiperglucemia incrementa el flujo hacia la vía de las hexosaminas. Tomado de Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Brownlee M. Nature 2001, 414: 813-20.

Un incremento en la vía de las hexosaminas (figura 11) fue descrito a finales de los 90 como la cuarta pieza en la patogenia de las complicaciones asociadas a la DM1¹⁸⁷. Cuando la glucosa está alta dentro de la célula, la mayor parte de esa glucosa es metabolizada a través de la glucólisis transformándose primero en glucosa-6 fosfato y luego a fructosa-6 fosfato. Parte de esta fructosa-6 fosfato se deriva hacia un camino de señalización en el que una enzima llamada GFAT (glutamina:fructosa-6 fosfato amidotransferasa) la transforma en glucosamina-6 fosfato y finalmente en UDP N-acetil glucosamina. La N-acetil glucosamina interacciona con residuos de serina y treonina de factores de transcripción, resultando en modificación de la expresión génica¹⁷⁶. Se ha demostrado la participación de esta vía en las anomalías de la expresión de los genes de la célula

glomerular y del cardiomiocito en cultivos celulares¹⁷⁶.

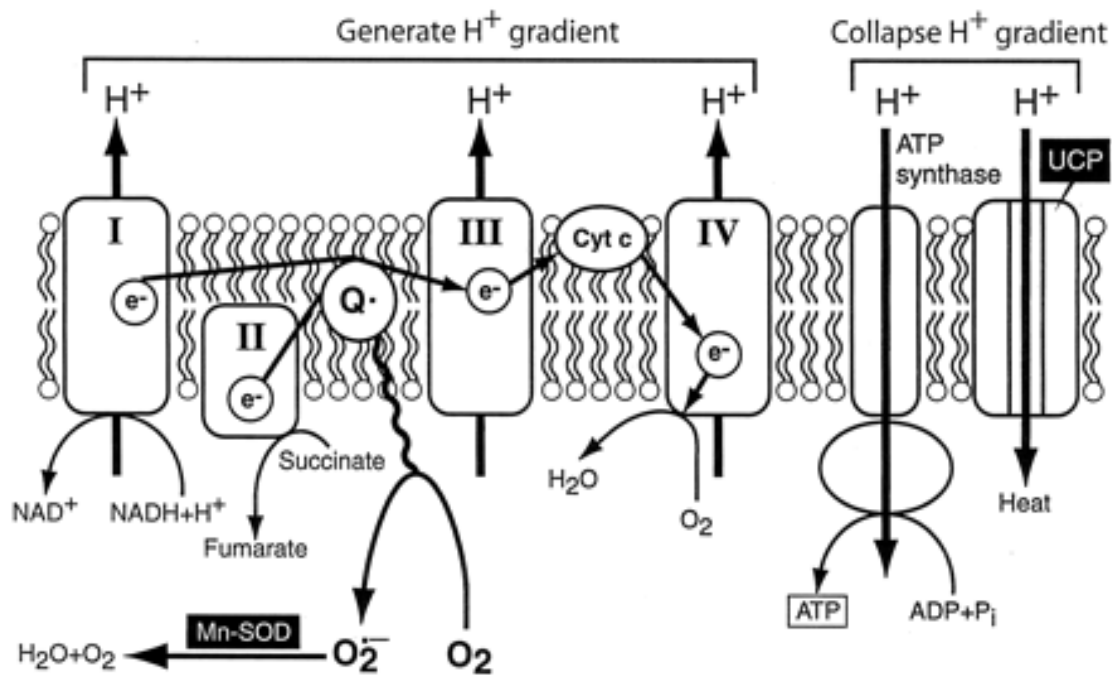


FIGURA 12: Cadena transportadora de electrones y superóxidos Tomado de Pathobiology of diabetic complications. Brownlee M. Diabetes 2005, 54: 1615-25.

Estos cuatro mecanismos patogénicos inducidos por el aumento de la glucosa intracelular se traducen en la sobreproducción de superóxidos por la cadena transportadora de electrones de la mitocondria (figura 12). Esto se descubrió al verificar que una característica común que diferenciaba las células que resultaban dañadas por la hiperglucemia respecto a las que salían indemnes era un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno¹⁷⁶. En la cadena transportadora de electrones de la mitocondria hay cuatro complejos proteícos llamados complejos I, II, III y IV¹⁷⁶. Cuando la glucosa se metaboliza a través del ciclo de los ácidos tricarbóxicos, genera donantes de electrones cuyo principal representante es el NADH que cede electrones al complejo I, el otro donante de electrones generado es el $FADH_2$ que dona electrones al complejo II¹⁷⁶.

Introducción

Los electrones de estos dos complejos son transferidos a la coenzima Q y de ésta al complejo III, citocromo C, complejo IV y finalmente a moléculas de oxígeno que se reducen a agua¹⁷⁶. El sistema transportador de electrones está organizado así para que el nivel de ATP sea regulable con precisión puesto que este flujo de electrones genera energía que es usada para bombear protones a través de la membrana por parte de los complejos I, III y IV¹⁷⁶. Esto genera un gradiente de voltaje transmembrana en la mitocondria que lleva a la síntesis de ATP¹⁷⁶. En las células con alta concentración de glucosa, ésta se deriva en mayor cantidad hacia el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, que genera más donantes de electrones hacia la cadena transportadora de electrones; como resultado de esto, el gradiente de voltaje a través de la membrana mitocondrial aumenta hasta alcanzar un umbral crítico en cuyo punto la transferencia de electrones del complejo III se bloquea y se deriva hacia la coenzima Q que dona los electrones a moléculas de oxígeno generando superóxidos¹⁷⁶. La superóxido dismutasa degrada este radical libre de oxígeno a peróxido de hidrógeno que después se transformará en agua y oxígeno¹⁷⁶.

La producción de superóxido mitocondrial inducida por la hiperglucemia reduce la actividad de una enzima clave glicolítica como es la gliceraldehído-3 fosfato dehidrogenasa (GAPDH), que a su vez activa las cuatro vías implicadas en el daño producido por hiperglucemia¹⁸⁸.

Una representación gráfica de este mecanismo integrador de las cuatro vías patogénicas inducidas por la hiperglucemia intracelular se muestra en la figura 13.

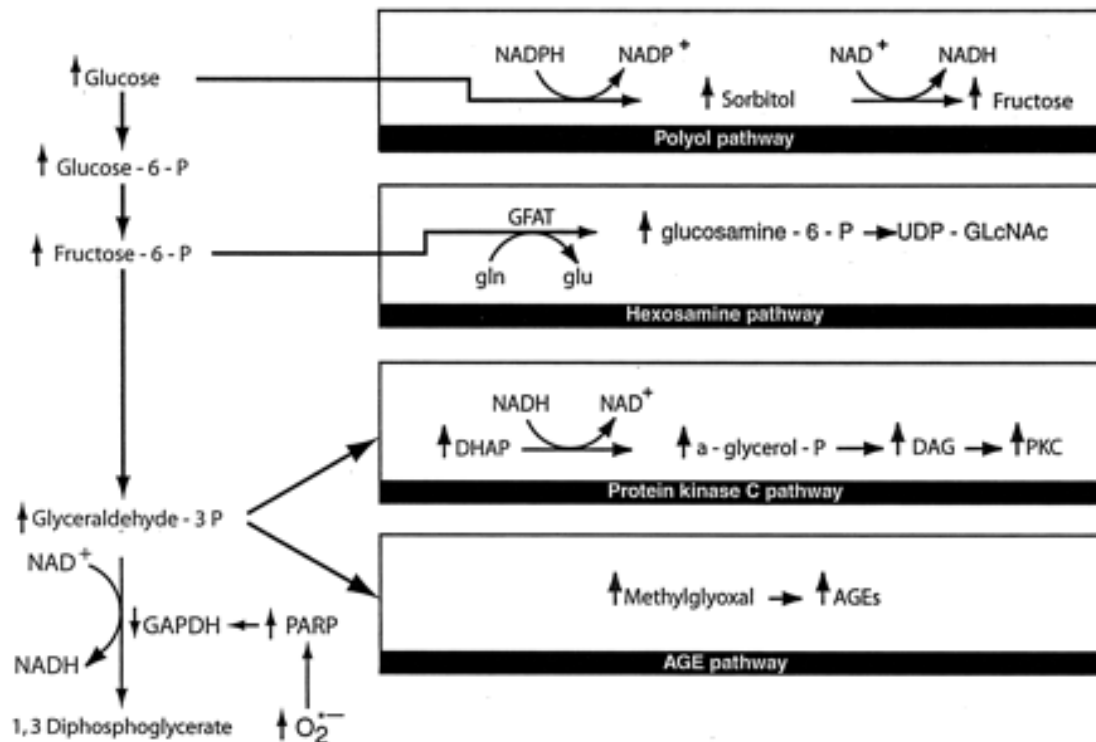


FIGURA 13: Sobreproducción mitocondrial de superóxido como mecanismo integrador. Tomado de *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Brownlee M. *Nature* 2001, 414: 813-20.

El modo en que los superóxidos inhiben la actividad de la GAPDH es mediante la modificación de la enzima con polímeros de ADP-ribosa (figura 14). El modo en que la hiperglucemia activa la polimerasa poli(ADP-ribosa) (PARP), enzima reparadora de DNA permanecía desconocido hasta que se descubrió que el incremento generado en las especies reactivas de oxígeno en la mitocondria ante el incremento de la glucosa intracelular llevaba a rupturas en la cadena de DNA que activaban a la PARP (figuras 14 y 15). Una vez activada la PARP separa la molécula de NAD⁺ en sus dos componentes: ácido nicotínico y ADP-ribosa. Tras esto, la PARP procede a hacer polímeros de ADP-ribosa que se acumulan en la GAPDH inactivándola¹⁷⁶.

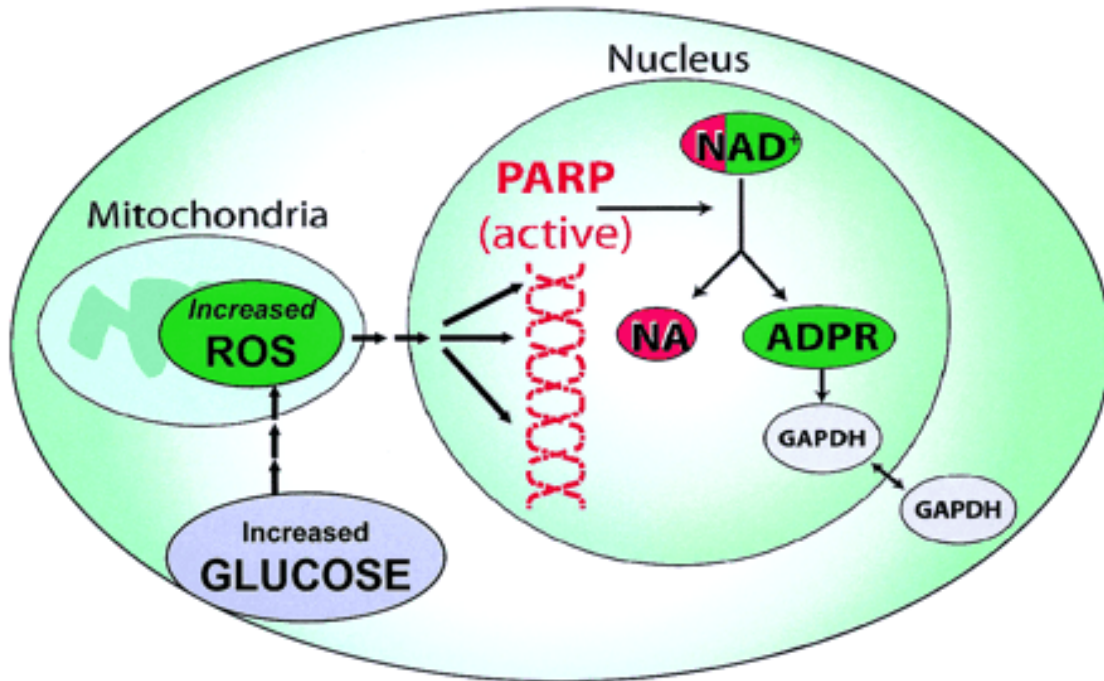


FIGURA 14: Las especies reactivas de oxígeno activan la PARP. Tomado de Pathobiology of diabetic complications. Brownlee M. Diabetes 2005, 54: 1615-25.

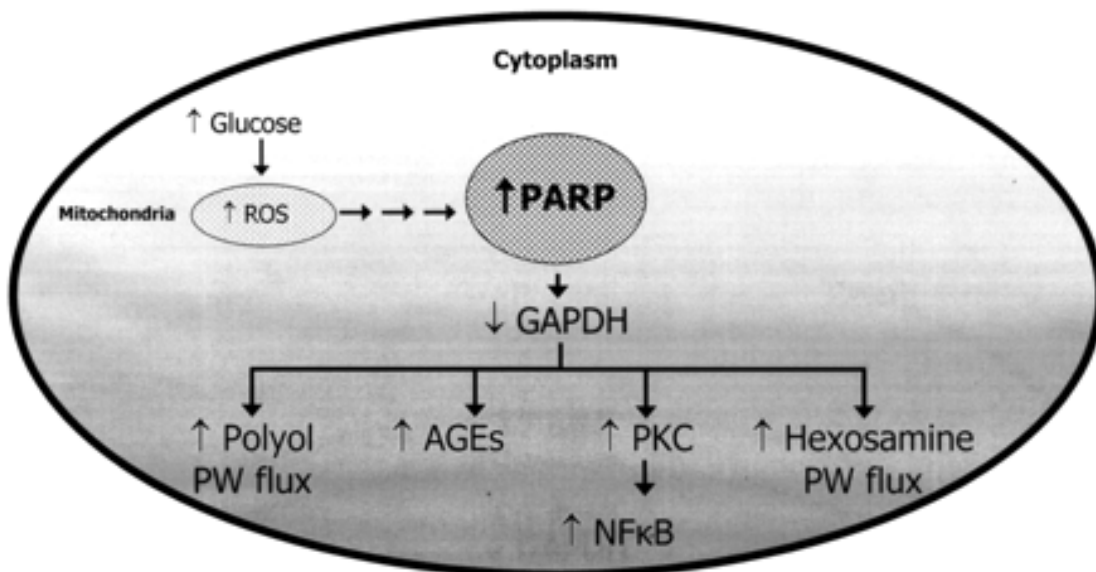


FIGURA 15: Mecanismo unificado del daño celular inducido por hiperglucemia. Tomado de Pathobiology of diabetic complications. Brownlee M. Diabetes 2005, 54: 1615-25.

Nefropatía: su signo más precoz es la microalbuminuria (definida como una excreción mantenida de albúmina entre 30 y 300 mg/día. Si no se trata adecuadamente puede progresar a macroalbuminuria, definida como excreción persistente de albúmina por encima de 300 mg/día. Se asocia con

pobre control glucémico y mayor tiempo de evolución de la DM1. El tabaco y la hipertensión incrementan el riesgo de progresión de la microalbuminuria. Se recomienda realizar cribado anual a partir de los 10 años de edad o al inicio de la pubertad si esta comenzara antes y a los 5 años de evolución de la DM1¹⁸⁹. En general basta con determinación de cociente albúmina/creatinina en primera orina de la mañana. Una muestra positiva debe ser confirmada por poder tratarse de un caso transitorio asociado a fiebre, ejercicio o menstruación. Si se confirma microalbuminuria persistente debería tratarse con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina exista o no hipertensión arterial. Generalmente se emplea captopril, enalapril o lisinopril, cuya dosis se titula según tolerancia hasta normalizar la excreción de albúmina, se debe advertir de su efecto teratogénico en mujeres en edad reproductiva.

Hipertensión: dos estudios que monitorizaban la presión arterial de forma ambulatoria durante 24 h demostraron un incremento en las tensiones sistólica y diastólica en niños con DM1^{190,191}. Los factores de riesgo para hipertensión incluían la etnia, obesidad y pobre control glucémico¹⁹². Su cribado debería realizarse en cada visita y más a menudo si los resultados son anormales¹⁸⁹. Se considera prehipertensión cuando las medidas se encuentran entre el percentil 90-95 en al menos 3 ocasiones. Si se detecta, la dieta y el ejercicio son las medidas primarias en rango prehipertensivo. Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina han de usarse en rango hipertensivo o si el estado de prehipertensión no mejora a pesar de medidas no farmacológicas durante 3-6 meses.

Retinopatía: se asocia a mayor duración de la DM1 y peor control glucémico. Otros factores de riesgo asociados con retinopatía son hipertensión, tabaco y susceptibilidad genética. La albuminuria persistente es un factor de riesgo para el empeoramiento de la visión de los colores que

puede preceder a la retinopatía¹⁹³. Los cambios retinianos más precoces (retinopatía latente) incluyen vénulas dilatadas, microaneurismas y derrames capilares, puede cursar con pérdida de agudeza visual si se sitúan próximos a la mácula. La fase preproliferativa es el segundo estadio con microinfartos retinianos. La fase proliferativa es la forma más severa e incluye isquemia retiniana, proliferación de neovasos, hemorragias. El cribado para retinopatía se recomienda en niños mayores de 10 años o al inicio de la pubertad si ésta se desencadenara antes o con 3-5 años de evolución de la enfermedad. El fondo de ojo con midriasis farmacológica debe ser anual¹⁸⁹. Los estadios iniciales son reversibles y la terapia con láser puede prevenir la progresión en estadios más avanzados.

Neuropatía: para su cribado se recomienda evaluar la percepción de vibración (usando un diapasón de 128 Hz) y de presión (usando un monofilamento de 10 g) al menos anualmente en niños, empezando 5 años tras el diagnóstico de la enfermedad. Debería ser evaluada también la neuropatía autonómica que incluye taquicardia en reposo, intolerancia al ejercicio, estreñimiento y síntomas de gastroparesia (náuseas, vómitos y sensación temprana de saciedad)¹⁸⁹. Como otras complicaciones microvasculares, el riesgo de neuropatía diabética se incrementa con peor control glucémico y duración más larga de la enfermedad.

Enfermedad cardiovascular: los sujetos con DM1 tienen diez veces más riesgo de enfermedad cardiovascular que sujetos no diabéticos de su misma edad¹⁹⁴. El estudio sobre complicaciones de la DM1 llevado a cabo por el servicio de Epidemiología de Pittsburgh describió una incidencia de enfermedad cardiovascular en pacientes menores de 40 años de un 1% al año y tres veces más alto en mayores de 55 años¹⁹⁵. El estudio EDIC (Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications) encontró que el tratamiento intensivo de la DM1 reducía el riesgo de eventos

cardiovasculares en un 42% comparado con el tratamiento convencional¹⁹⁶. Además existen estudios que demuestran que los resultados tras un evento coronario agudo son menos favorables en pacientes diabéticos¹⁹⁷, lo que puede ser explicado por expresión de anticuerpos frente a proteínas cardíacas¹⁹⁸. Las alteraciones en la función cardíaca y en el perfil lipídico de niños con DM1 sugieren que el proceso de la enfermedad cardiovascular se inicia precozmente en el curso de la DM1. Los niños con DM1 tienen un tamaño del ventrículo izquierdo reducido y un volumen de eyección disminuido incluso en ausencia de hipertensión o nefropatía. El cribado del perfil lipídico debería empezarse a la edad de 10 años o antes si la pubertad comienza más pronto. En niños entre 2 y 10 años debería adelantarse esta determinación si existen antecedentes familiares de hipercolesterolemia (definida como colesterol mayor o igual de 240 mg/dL), de eventos cardiovasculares en familiares varones de primer o segundo grado menores de 55 años o mujeres menores de 65, o si la historia familiar es desconocida. También se recomienda el cribado si el niño presenta sobrepeso u obesidad¹⁸⁹. Con LDLc por debajo de 100 mg/dL, debería repetirse cada 5 años (o cada 2 si el control metabólico es pobre con HbA1c mayor de 9%), si no, se recomienda hacerlo anualmente. El paso inicial en la terapia es limitar las grasas de la dieta (menos de 200 g al día de colesterol y grasas saturadas por debajo 7% del total de calorías), mejorar el control glucémico y favorecer la pérdida de peso, repitiendo el control a los 3-6 meses de iniciar la intervención no farmacológica. El tratamiento farmacológico en niños con DM1 se recomienda a partir de los 10 años de edad si el LDL excede los siguientes valores a pesar de medidas higiénico-dietéticas: LDLc mayor de 160 mg/dL, o entre 130 y 159 si están presentes otros factores de riesgo cardiovascular como obesidad, tabaquismo o historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz. Como primera línea terapéutica se recomiendan las estatinas.

HEMOSTASIA, DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y SISTEMA FIBRINOLÍTICO EN DIABETES MELLITUS TIPO 1

Los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 tienen un riesgo de 2 a 4 veces aumentado de desarrollar aterosclerosis que a su vez se asocia a tasas mayores de complicaciones micro y macrovasculares que son la principal causa de morbi-mortalidad especialmente en aquellos con más de 5 años de evolución de la enfermedad¹⁹⁹.

La disfunción endotelial ha sido identificada como un marcador temprano de enfermedad vascular en DM1²⁰⁰.

Para mantener una adecuada función endotelial se requiere un balance entre las sustancias vasoconstrictoras y las vasodilatadoras que interactúan en el medio endovascular. Así, el óxido nítrico se produce en las células endoteliales difundiendo hacia las células del músculo liso y las plaquetas, promoviendo la relajación muscular y reduciendo la agregación plaquetaria. De este modo, la reducción del óxido nítrico se asocia con incremento en el daño vascular al favorecer la agregación de las plaquetas, incrementar la adhesión de los monocitos al endotelio y estimular la proliferación de las células del músculo liso²⁰¹.

El papel de la hiperglucemia como inductora de la síntesis de radicales libres y de productos finales de la glicosilación avanzada relacionados con la inflamación y el estrés oxidativo han sido propuestos como un posible mecanismo en la patogénesis de la disfunción endotelial, puesto que además acelerarían la inactivación del óxido nítrico²⁰¹.

También la hipoglucemia se ha asociado con la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y la inflamación, especialmente si su recuperación acaba en hiperglucemia²⁰².

Otras sustancias implicadas en la disfunción endotelial son la insulina y el péptido C. Varios estudios han mostrado que, el efecto vasodilatador de la insulina depende de la síntesis de óxido nítrico, al demostrar que el uso de sustancias que bloquean la óxido nítrico sintetasa inhiben el incremento de flujo sanguíneo generado por la acción de la insulina²⁰³. Por otra parte, la administración aguda de péptido C es capaz de incrementar el flujo sanguíneo en pacientes con DM1 pero no en sujetos sanos. Así mismo, la infusión mantenida de péptido C en diabéticos mejora la función renal por un mecanismo que implica la interacción entre el óxido nítrico y la Na-K ATPasa²⁰⁴.

Otro factor implicado en la disfunción endotelial es la reducción del número de células progenitoras endoteliales en sujetos diabéticos²⁰⁵. Esta reducción además se relaciona con la severidad de la enfermedad vascular periférica²⁰⁶.

Así mismo, la endotelina y la angiotensina II, ambas potentes sustancias vasoconstrictoras, promueven la disfunción endotelial en el medio metabólicamente alterado de la diabetes²⁰⁷.

Recientemente, Bruzzi et al han publicado un estudio longitudinal que evalúa la función endotelial en niños y adolescentes con DM1 mediante la valoración con ecografía de la vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial, que ya describió Celermajer²⁰⁸ como método no invasivo y buen marcador de la función endotelial.

Los resultados de este estudio de Bruzzi et al, demuestran que, basalmente, un 43,6% de diabéticos tipo 1 presentaban una incapacidad para la dilatación mediada por flujo de la arteria braquial comparada con los valores obtenidos en población control sana. Esta discapacidad empeoraba

aún más en las siguientes mediciones (al menos un año de seguimiento), sobre todo en el caso de los pacientes varones²⁰⁹.

Dado que la disfunción endotelial aparece de forma temprana en niños diabéticos, aumentando el riesgo de aterosclerosis, sería importante poder estratificar a la población pediátrica con DM1 según su riesgo cardiovascular para así poder seguirlos de forma más estrecha.

Factor von Willebrand

Forma parte del entramado de la coagulación y es considerado un marcador de disfunción endotelial. Se sintetiza exclusivamente en células endoteliales y megacariocitos, siendo un preprofactor de 225 kDa, posteriormente se dimeriza formando el profactor, que se polimeriza formando un complejo de entre 450 y 10000 kDa. Se almacena en los gránulos plaquetarios encontrándose en menores concentraciones en personas con grupo sanguíneo tipo 0. Contribuye a la formación del trombo en las fases iniciales de la hemostasia primaria. Su función, junto con el fibrinógeno y la trombina, es fundamental en la adhesión y en la agregación plaquetaria. Es un marcador de disfunción endotelial, predictor de aterosclerosis y del riesgo de resistencia a la insulina y DM tipo 2. Debido a que el FVW se activa al dañarse el endotelio todo factor de riesgo cardiovascular que provoque un daño endotelial, cardiopatía isquémica, DM, HTA, se acompaña de niveles elevados de FVW. Se ha descrito que la actividad trombogénica del FVW es proporcional a su tamaño molecular y se relaciona inversamente con su proteólisis por ADAMTS-13 (figura 16). La oxidación del FVW perjudica su proteólisis por la metaloproteasa²¹⁰.

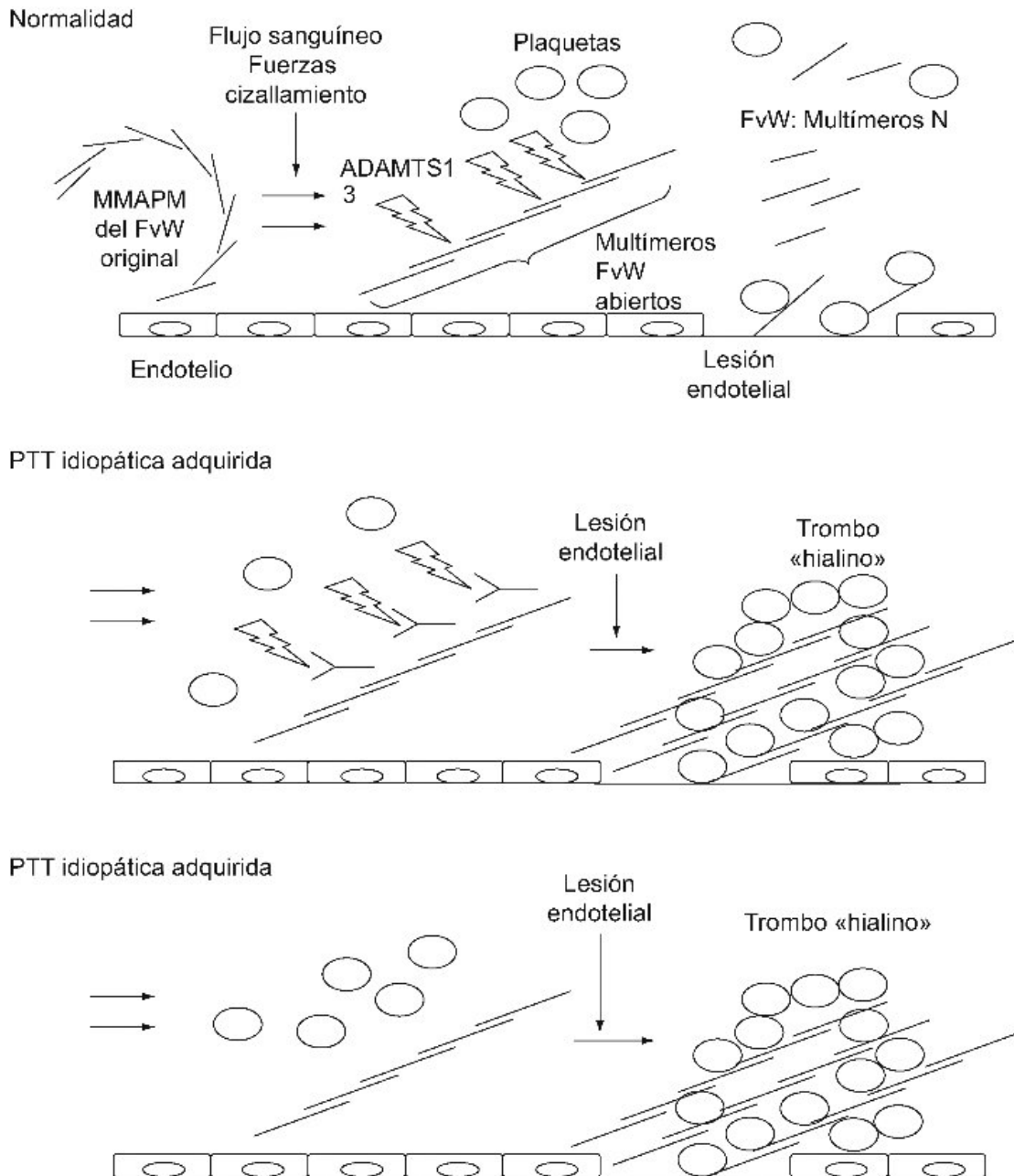


FIGURA 16: Ejemplos de la actividad trombogénica del FvW en relación con su tamaño molecular y el nivel de actividad de la metaloproteasa ADAMTS 13.

El estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de la disfunción endotelial, caracterizada además de por un incremento en el tono y rigidez vascular, por la presencia de un estado protrombótico y antifibrinolítico²¹¹.

Existen estudios que tratan de demostrar si el estrés oxidativo descrito en pacientes con diabetes implica también al FvW, modificando sus niveles y

Introducción

su estructura multimérica, si el proceso proteolítico por la metaloproteasa se altera por cambios en los niveles o en la función de ADAMTS-13 y si la presencia de FVW oxidado se asocia con las complicaciones micro y macrovasculares en ambos tipos de diabetes. Para ello, reclutaron 41 pacientes con DM1 y 42 con diabetes tipo 2 todos ellos en edad adulta y con más de 3 años de evolución de su enfermedad, con sus respectivos 84 pacientes controles sanos. Los diabéticos tipo 2 tuvieron niveles más altos de FVW, de su actividad y de proteínas plasmáticas acetiladas (marcadoras de estrés oxidativo) comparados con sus controles y con los pacientes con DM1. Además, multímeros de alto peso molecular de FVW y FVW acetilados estaban incrementados significativamente en sujetos con micro y macroangiopatía. Tanto en DM1 como en tipo 2, la actividad de la ADAMTS-13 estaba en el rango normal. Siendo la primera evidencia de que no sólo altos niveles de FVW sino también su estado de oxidación y la presencia de multímeros de alto peso molecular se asocian con procesos trombóticos en diabetes²¹².

Antitrombina III

La ATIII es una glicoproteína sintetizada en el hígado y en menor medida en el endotelio vascular.

Es responsable en gran medida de la anticoagulación. Está compuesta por tres proteínas que tienen un peso total de 58 kDa.

La ATIII actúa sobre la trombina y sobre los factores IX, X y XII inactivándolos en presencia de heparina (figura 17).

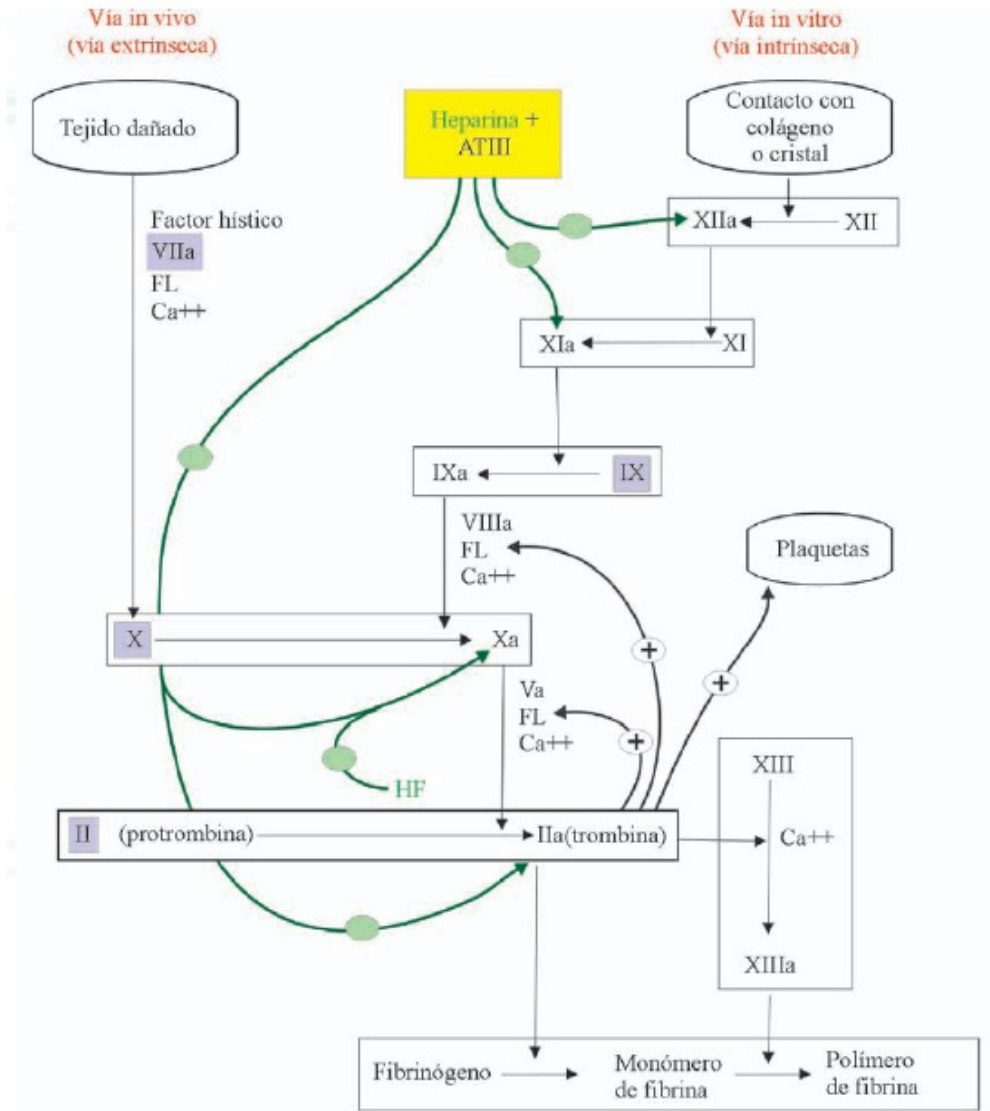


FIGURA 17: Niveles de acción de la ATIII en la cascada de la coagulación.

Se ha comprobado que tiene funciones antiinflamatorias²¹³ por disminución de los niveles de $TNF\ \alpha$ e $IL6$; también actúa sobre los leucocitos impidiendo su adherencia al endotelio²¹⁴.

Los resultados en cuanto a sus niveles y actividad en diabetes son controvertidos, existiendo estudios como el de Ceriello et al que demuestran que un peor control metabólico se relaciona con una disminución de la actividad biológica de la ATIII en diabéticos a pesar de ser normales los niveles de ATIII. También se demostraba menor actividad de ATIII en sujetos con diabetes que en sujetos sanos, correlacionándose a

su vez negativamente dicha actividad con el nivel de proteínas glicosiladas²¹⁵. Sin embargo, Patrassi et al no pudieron demostrar diferencias entre actividad y concentración de ATIII entre DM1 y tipo 2 ni entre sujetos diabéticos con buen o mal control metabólico²¹⁶.

Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido sulfurado que se origina a partir de la metionina. La metionina y sus derivados están involucrados en múltiples y fundamentales procesos metabólicos²¹⁷.

La homocisteína se encuentra en el plasma en diversas formas moleculares: homocisteína en forma libre (1%), unido a proteínas plasmáticas (albúmina) por un puente disulfuro, que constituye aproximadamente el 70% de la homocisteína total. Forma dímeros gracias a su reactividad con los grupos sulfhidrilo, que es lo que se denomina homocistina; y estableciendo puentes disulfuro con la molécula de cisteína. La suma de todas estas formas es lo que denominamos homocisteína total, y es a lo que nos referimos con el término homocisteína²¹⁷.

Con independencia de las hiperhomocisteinemias de origen genético, las concentraciones de HCN en la población general están condicionados por factores tales como la edad, sexo, raza, estado vitamínico, hábitos dietéticos, estilos de vida (tabaco, alcohol, actividad física, etc.), índice de masa corporal, ingesta de algunos fármacos, enfermedades renales y otros de menor importancia como la tensión arterial o la concentración de lípidos plasmáticos. En la práctica, los principales determinantes de la homocisteinemia entre la población general sana son la concentración de ácido fólico plasmático y la de la vitamina B12, por este orden. Concentraciones superiores a 15 $\mu\text{mol/l}$ se consideran hiperhomocisteinemia²¹⁷.

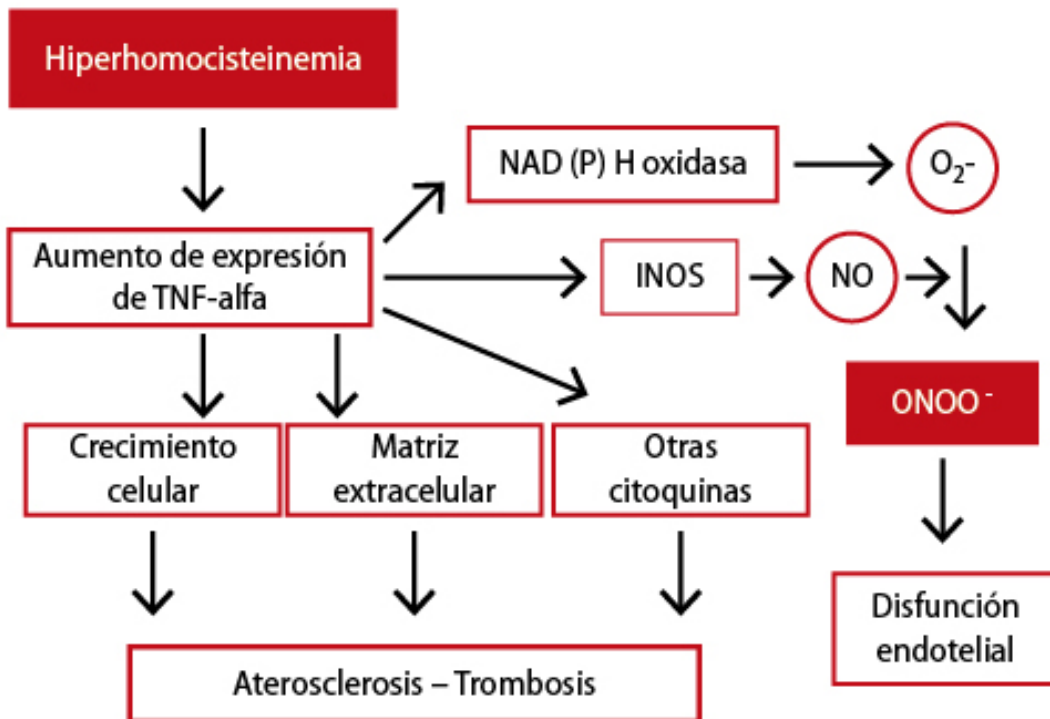


FIGURA 18: Efectos trombogénicos de la homocisteína.

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo de aterotrombosis y enfermedad vascular tromboembólica²¹⁸. Valores elevados de homocisteína se asocian a infarto de miocardio²¹⁹. Esta asociación se puede deber a que la HCN produce disfunción endotelial, alteraciones en la vasodilatación, proliferación de células del músculo liso de los vasos, aumento de la coagulación y efectos inflamatorios (figura 18).

Recientemente se ha publicado que la hiperhomocisteinemia y la hiperglucemia inducen y potencian la disfunción endotelial por activación de la vía de la calpaína, correlacionándose ambas positivamente con la mortalidad cardiovascular en diabetes²²⁰.

Fibrinógeno

Es una glucoproteína plasmática compuesta de tres subunidades y sintetizada en el hígado. Por acción de la trombina se convierte en fibrina

promoviendo la formación del coágulo. Dadas sus altas concentraciones en plasma es un factor determinante en la viscosidad sanguínea y en la agregación plaquetaria. Es conocida su relación con las enfermedades cardiovasculares considerándose un buen marcador inflamatorio y factor de riesgo cardiovascular²²¹.

En un metaanálisis publicado en JAMA en el 2005²²² se informa de la asociación entre el fibrinógeno con el infarto de miocardio y con la mortalidad de causa vascular, aunque concluye que se requieren más investigaciones para saber si esta asociación es causal o no.

También otros estudios lo han relacionado positivamente con aterosclerosis multifocal en pacientes con diabetes²²³ y con el desarrollo de retinopatía en pacientes con diabetes tipo 2²²⁴.

Factor inhibidor del activador del plasminógeno 1

El PAI-1, descrito en 1984²²⁵, es una glucoproteína de cadena simple de 50 kDa y 379 aminoácidos. Se ha aislado en células endoteliales, plasma, plaquetas, placenta, macrófagos, líneas tumorales y tejido adiposo. Su gen se localiza en el cromosoma 7 (7q21.3-q22; MIM 173360). Su concentración normal varía entre 6 y 80 ng/ml. Pertenece a la familia de las serin-proteasas al igual que la alfa 1 antitrombina y la AT, con las que comparte un 30% de su estructura.

El PAI-1 es la forma circulante y es el inhibidor del activador del plasminógeno más potente que se conoce. El tipo 2 es la forma intracelular (presente en los leucocitos y en la placenta), aunque también puede estar en el plasma de mujeres gestantes. El PAI-3 es más conocido como inhibidor de la proteína C.

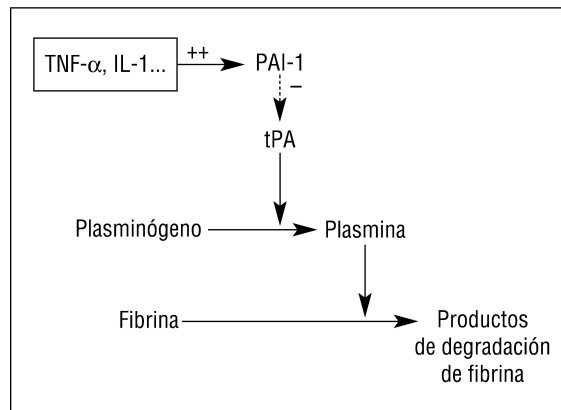


FIGURA 19: Papel del PAI-1.

El PAI-1 es el principal encargado de limitar la formación del coágulo. Reacciona con el activador tisular del plasminógeno produciendo la formación de otro péptido (figura 19). El PAI-1 se consume al inhibir el activador del plasminógeno, por lo que se le conoce también como el “inhibidor suicida”. Tiene otras funciones como son la estabilización del tapón hemostático al prevenir la lisis prematura de la fibrina; además tiene relación con otros procesos como son la ovulación, la angiogénesis e incluso las metástasis, ya que se ha encontrado que aquellos tumores más malignos llevan asociados un incremento del PAI-1.

Se encuentra incrementado en enfermedades con componente inflamatorio²²⁶.

Se ha encontrado correlación del PAI-1 con la enfermedad coronaria y con factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares como la obesidad, la HTA, la resistencia a la insulina, la DM tipo 2 y la hipertrigliceridemia.

El PAI-1 juega un papel fundamental en la enfermedad arterial coronaria y la isquemia miocárdica²²⁷ independientemente de los niveles de colesterol. Los niveles de PAI-1 se encuentran más elevados en aquellos pacientes diabéticos que sufren un IAM; también se encuentra elevado en las placas

de ateroma.

La insulina juega un papel importante en la elevación del PAI-1. Esto se desprende de observaciones en pacientes diabéticos tipo 2 con niveles de insulina elevados en los que se ha encontrado reducida la fibrinólisis secundariamente a una elevación de los niveles de PAI-1²²⁸. En estudios experimentales con ratones se ha demostrado que la infusión de insulina va seguida de un aumento del PAI-1. Además, situaciones que elevan los niveles de insulina en plasma asocian un incremento del PAI-1 y, lo contrario ocurre cuando la insulina disminuye.

Recientemente se ha publicado un estudio de los niveles de PAI-1 en 80 niños y adolescentes con DM1 comparándolos con los valores en 40 controles sanos, estableciendo el grosor de la íntima-media de la carótida como factor de riesgo sinérgico en el desarrollo de aterosclerosis. Demostrando que los niveles de PAI-1 estaban incrementados de forma significativa en el grupo con diabetes comparado con el grupo control, también estaba elevado en pacientes con complicaciones microvasculares comparado con aquellos sin ellas. Se halló una correlación positiva entre los niveles de PAI-1, la glucemia, la HbA1c, los niveles de triglicéridos, el colesterol total y el grosor de la íntima-media carotídeo²²⁹.

FACTORES INFLAMATORIOS Y DIABETES MELLITUS TIPO 1

La incidencia de DM 1 se está incrementando en torno a un 3-5% por año a nivel mundial y este aumento no puede ser explicado por factores genéticos conocidos. Un incremento paralelo se observa en obesidad infantil, por ello se piensa que la obesidad puede estar contribuyendo al incremento en la incidencia de DM1²³⁰. Mientras que la mayoría de adolescentes con DM1 no muestran obesidad, el sobrepeso y la obesidad se han incrementado en los últimos años entre los jóvenes, incluyendo aquellos con DM1²³¹. La

inflamación es una condición común a ambas patologías, y se asocia con el desarrollo en DM1 de complicaciones micro y macrovasculares²³². Sin embargo, el papel de la obesidad frente al de la hiperglucemia en el desarrollo de la inflamación entre jóvenes con DM1 permanece sin determinar.

Existen estudios, como el publicado por Snell-Bergeon et al, que tratan de investigar si la inflamación se asocia con la DM1, independientemente del estado de adiposidad y de hiperglucemia, y tratan también de examinar una posible asociación entre inflamación y obesidad, hiperglucemia y dislipemia en jóvenes con DM1. En dicho estudio, encontraron que los jóvenes con DM1 tenían incrementados los parámetros que miden inflamación sistémica comparados con jóvenes sin diabetes de similar edad y estadio puberal, independientemente de su etnia, sexo, estado de hiperglucemia y obesidad²³³. La hiperglucemia aguda y el peor control glucémico al inicio de la enfermedad se han asociado con incremento en los parámetros inflamatorios en niños con DM1 pero es menos claro si la hiperglucemia mantenida en diabetes de más larga duración se asocia con inflamación. Así en el estudio de Snell-Bergeon no se encuentra asociación entre HbA1c e IL6²³³, sin embargo, Rosa et al, encuentran niveles incrementados de IL6, IL4 e IL1 α en el momento agudo de hiperglucemia que se mantenían al menos 2 h después de conseguida la normoglucemia²³⁴.

Leptina

Proteína de 16 kDa de la familia de las citocinas, de 167 aminoácidos, codificada por el gen *LEP* (7q31.1; MIM: 164160), sintetizada principalmente en el tejido adiposo y que actualmente se considera la hormona clave en la regulación de la ingesta.

Fue descrita por primera vez en 1994 por Zhang et al²³⁵. Estos autores

Introducción

estudiaron dos grupos de ratones obesos homocigóticos para el gen *ob* y el gen *db*, concluyendo que mientras que los primeros carecían de un “factor de saciedad” los segundos lo tenían, pero eran insensibles a dicho factor que parecía que regulaba la ingesta de nutrientes y el gasto energético. Zhang concluyó que el gen *ob* se expresa en el tejido adiposo y es el encargado de codificar la leptina.

Para que la leptina pueda ejercer su efecto debe unirse a su receptor. Este receptor puede tener 6 formas distintas; una de ellas actúa como su transportador, otra está presente en el hipotálamo y las cuatro restantes aparecen en diversos órganos como son las plaquetas, el hígado y el intestino.

La leptina consigue disminuir la ingesta mediante tres mecanismos, disminuye la sensación de hambre actuando sobre el núcleo ventromedial del hipotálamo, aumenta la sensación de saciedad después de una comida y disminuye la sensación de bienestar después de la ingesta²³⁶. En animales de experimentación con normopeso su administración reduce la ingesta de alimentos mientras que en animales obesos la respuesta disminuye por una resistencia a su acción.

La principal función de la leptina es la regulación de la ingesta. También tiene efecto protrombótico²³⁷ (mediado por el receptor de leptina presente en las plaquetas) y sobre la formación de hueso²³⁸.

Su producción es estimulada por la insulina, los triglicéridos, los estrógenos, los glucocorticoides y diversas citocinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la IL6, lo que puede explicar la anorexia existente en procesos tumorales y en la septicemia^{239,240}

La cantidad de leptina es proporcional a la cantidad de grasa corporal²⁴¹,

aumenta durante la pubertad²⁴² y el embarazo²⁴³ y sus concentraciones son mayores en las mujeres²⁴⁴.

La leptina está implicada en el desencadenamiento de la pubertad; para que ésta se produzca es preciso que exista un mínimo de grasa en el organismo. Se sugiere que la leptina actúa informando al cerebro de la cantidad de grasa corporal.

Otra acción atribuida a la leptina es el incremento de la tensión arterial²⁴⁵ cuando se encuentra en concentraciones elevadas; en estos casos, se apunta como posible mecanismo de acción la activación del sistema nervioso autónomo.

La leptina es el péptido segregado por el tejido adiposo blanco más estudiado en DM1. Hay acuerdo en que la edad, el índice de masa corporal, el sexo y estadio puberal son los mayores determinantes en las concentraciones séricas de leptina en sujetos diabéticos, sin embargo existe controversia en su relación con variables más específicas de diabetes como son la HbA1c o la dosis de insulina. En la mayor parte de estudios, la concentración de leptina es más alta de lo esperable por el estado de adiposidad en diabéticos²⁴⁶⁻²⁴⁹, por lo que se ha postulado que existe un estado de resistencia a la leptina inducido por un incremento en la insulina circulante, como se demuestra por el hecho de una asociación demostrada en algún estudio entre la leptina y la dosis de insulina diaria²⁵⁰. En el estudio de Celi et al, las concentraciones séricas de leptina de los niños con DM1 en estado prepuberal no diferían de aquellas de los sujetos control de similar edad, sexo y composición corporal. En diabéticos en pubertad, persistía el dimorfismo sexual observado en las concentraciones de leptina, con mayor concentración en mujeres, y además sus valores fueron mayores que en no diabéticos. En el estudio de Snell-Bergeon en adolescentes

diabéticos los niveles de leptina fueron más bajos entre los pacientes con hemoglobinas glicosiladas mayores incluso después de ajustar por índice de masa corporal, lo que podría explicarse por una infrainsulinización de los mismos²³³.

Un estudio reciente asocia positivamente la leptina con el ayuno y demuestra estimulación de la función de la célula beta en pacientes con DM1²⁵¹.

Se ha propuesto incluso como medida terapéutica para frenar la respuesta inmune contra la célula beta pancreática²⁵² pero aún no hay datos concluyentes en humanos²⁵³ aunque sí en animales²⁵⁴.

Adiponectina

Descrita²⁵⁵ en 1995 es una proteína de 30 kDa codificada a partir del gen *APM1* (3q27; MIM: 605441) y sintetizada exclusivamente en los adipocitos, sobre todo del tejido subcutáneo. Corresponde al 0,01% del total de las proteínas circulantes en plasma y alcanza concentraciones de 5-20 µg/ml. Forma agregados que pueden ser de alto peso molecular (400-600 kDa) o de bajo peso molecular (180 kDa). Se la considera responsable de la relación entre obesidad y resistencia a la insulina²⁵⁶.

La adiponectina tiene efecto normoglucemiante²⁵⁷: mediante la activación de la AMP quinasa y de la actividad de la PPAR-γ incrementa la oxidación de los ácidos grasos, lo que motiva que aumente la glucosa en el músculo resultando una disminución de los niveles de glucemia. También tiene una función relevante en la homeostasis y en la sensibilidad a la insulina. La administración exógena de adiponectina activa la utilización de glucosa en el músculo e induce la oxidación de los ácidos grasos musculares y hepáticos, dando lugar a una disminución del contenido de TGC y a un

descenso de la producción hepática de glucosa.

Habitualmente, la adiponectina de alto peso molecular es la que mejor se correlaciona con los parámetros de sensibilidad a la insulina.

También se la relaciona con la HTA esencial²⁵⁸ de los pacientes obesos por un mecanismo de deterioro de la vasorreactividad.

Todos los factores antedichos permiten afirmar que concentraciones bajas de adiponectina van a influir en el desarrollo incipiente del hígado graso no alcohólico²⁵⁹.

Por otro lado, la disminución de esta hormona tendrá un papel importante en el incremento de los factores de riesgo cardiovascular clásico.

Desde un punto de vista cardioprotector la adiponectina disminuye la formación de la placa de ateroma²⁶⁰, dificulta su progresión y, una vez formada, la estabiliza para impedir su ruptura. Esto parece realizarlo por la capacidad que tiene de acumularse en el espacio subendotelial reduciendo la proliferación del músculo liso vascular. La evidencia de la acción protectora de la adiponectina sobre el riesgo cardiovascular se corrobora con la observación de que sujetos con concentraciones más altas de adiponectina tienen menor riesgo de infarto²⁶¹.

Celi et al²⁵⁰ publicaron en su estudio sobre población infantil con y sin DM1 que las concentraciones de adiponectina no mostraban diferencias significativas en relación con el sexo o el estadio puberal. Sí encontraron relación positiva entre la adiponectina y la HbA1c, encontrando además concentraciones mayores en sujetos diabéticos comparados con no diabéticos. No encontraron correlación con la dosis de insulina o duración del tratamiento. Sherief et al, también encontraron correlación entre los

niveles de adiponectina y la presencia de complicaciones microvasculares en niños con DM1²⁶².

Sin embargo siguen existiendo resultados contradictorios, así Morales et al, no encuentran en su estudio diferencias entre las concentraciones de adiponectina en niños diabéticos y no diabéticos mayores de 10 años²⁶³.

Factor de necrosis tumoral alfa

Es una proteína de 27 kDa codificada por el gen TNF (6p21.3; 191160). Se divide en dos, formando el TNF α que tiene un peso molecular de 17 kDa. Se la considera afín a la IL6 ya que comparten múltiples características. Tienen un origen común ya que son sintetizadas por monocitos, macrófagos y adipocitos. Sus niveles se relacionan con el grado de obesidad e interfieren en la acción de la insulina produciendo resistencia a la insulina por un aumento de la lipólisis y de la liberación de ácidos grasos. La diferencia más significativa con la IL6 es que el TNF α se encuentra más relacionado con la cantidad de grasa subcutánea y menos con la grasa visceral²⁶⁴.

El estudio de Romano et al²⁶⁵ sobre 40 jóvenes con DM1 (12.5 \pm 4.6 años) divididos en dos grupos según tiempo de evolución de su diabetes (más o menos de un año) y comparados con un grupo control de individuos sanos sugiere que el TNF α puede representar al menos uno de los agentes que una la reacción inflamatoria con la aparición del daño endotelial en niños con DM1. De hecho, el TNF α induce la liberación de FVW y disfunción endotelial transitoria y reversible en humanos²⁶⁶. Observaron además que, pacientes con menos de un año de evolución con niveles iniciales de TNF α más elevados se correspondían con aquellos con daño endotelial persistente tras un año de evolución, lo que podría indicar que el grado inicial de respuesta inflamatoria, podría influir en la posibilidad de desarrollar disfunción endotelial permanente.

Sin embargo, siguen existiendo datos contradictorios, así en el estudio de Celi et al²⁵⁰, no encuentran diferencias significativas entre niños con y sin diabetes en cuanto a los valores de TNF α .

Interleucina 6

La IL6 (7p21; MIM 147620) es una citocina secretada fundamentalmente por los monocitos, los macrófagos y los adipocitos (entre un 15-30% de la circulante proviene del tejido adiposo) que relaciona el exceso de grasa y la aparición de la resistencia a la insulina. Tiene un tamaño que oscila entre los 22 y los 27 kDa; circula unida a la glucosa en concentraciones inferiores a 4 pg/mL. Estas concentraciones pueden ser mucho más altas en situaciones de inflamación.

Aumenta la lipólisis y la secreción de ácidos grasos contribuyendo a una mayor producción de glucosa hepática y a un aumento de insulinemia. Por otro lado, la infusión de insulina eleva los niveles de IL6 en el tejido adiposo.

Otros efectos de la IL6 son inhibición de la adipogénesis y, por tanto, estimula el gasto energético, y capacidad de reducir los niveles de óxido nítrico circulante, lo que junto al aumento de los ácidos grasos circulantes y el incremento de proteína C reactiva (PCR), induce alteración endotelial y oxidación de las lipoproteínas que conlleva a aterosclerosis²⁶⁷.

Snell-Bergeon et al, no encontraron diferencias significativas para los niveles de IL6 entre jóvenes con DM1 de larga evolución y los de reciente diagnóstico, pero sí hallaron niveles mayores en jóvenes con normopeso y DM1 comparados con jóvenes no diabéticos, lo que sugiere que un mecanismo distinto al de la obesidad es responsable del incremento de la inflamación observada en los jóvenes con DM1. Mostraron también

correlación entre los niveles de IL6 y un perfil lipídico aterogénico²³³.

Erbağci et al describen también niveles elevados de IL6 sólo entre los pacientes con DM1 de reciente diagnóstico²⁶⁸.

También se han descrito elevaciones de IL6 en niños con DM1 en el momento agudo de la hiperglucemia persistiendo hasta 2 h después de corregida ésta²³⁴, sin embargo, Snell-Bergeon et al no encuentran asociación entre IL6 y HbA1c²³³.

Proteína C reactiva ultrasensible

Descrita en 1979²⁶⁹ (1q21-q23; MIM: 123260) es un reactante de fase aguda sintetizado en el hígado. La PCR se correlaciona con el grado de obesidad, ya que en estos casos existe una inflamación sistémica de bajo grado con elevación de citocinas, al igual que ocurre en la diabetes y en las enfermedades cardiovasculares. La respuesta inflamatoria es en gran parte responsable de la aparición de la aterosclerosis y se ha relacionado a la PCR con los eventos cardiovasculares y con su recurrencia²⁷⁰. Sus niveles no están influidos por la edad ni por el estadio de Tanner por lo que es de utilidad como marcador de riesgo cardiovascular en la época puberal²⁷¹.

Romano et al encuentran para los valores de PCR un comportamiento similar al de los de TNF α ²⁶⁵.

Snell-Bergeon et al tampoco encontraron diferencias significativas entre los diabéticos tipo 1 de larga evolución y los de reciente diagnóstico en lo concerniente a niveles de PCR. También describieron valores más altos de PCR en jóvenes diabéticos con normopeso respecto a jóvenes sanos pero sólo en aquellos con HbA1c alta. Mostraron también asociación de los niveles de PCR con un perfil lipídico aterogénico²³³.

Schölin et al también muestran asociación entre los valores de PCR e IL6 y un peor control glucémico durante el primer año tras el diagnóstico de la DM1²⁷².

En Julio de 2003, el grupo de estudio de complicaciones derivado del seguimiento prospectivo del EURODIAB, publicó que los factores de riesgo vascular y marcadores de disfunción endotelial eran determinantes de los marcadores inflamatorios en DM1. Demostraron que estos marcadores de actividad inflamatoria estaban asociados con el sexo, la duración de la diabetes, el control glucémico, IMC, TAS, HDLc (inversamente) y TGC. Fue el primer estudio en demostrar además que, en DM1 la actividad inflamatoria está fuertemente asociada con las moléculas de adhesión y los marcadores de disfunción endotelial. Así mismo también demuestra la relación inversa, asociando los factores de riesgo convencionales y la disfunción endotelial como importantes determinantes de inflamación aún en ausencia de complicaciones²⁷³.

HIPÓTESIS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

1. En la diabetes mellitus tipo 1 existe un componente inflamatorio en relación con el proceso de destrucción autoinmune de la célula beta y con el grado de control metabólico existente.
2. El componente inflamatorio de la diabetes mellitus tipo 1 se acompaña de una alteración en las citocinas inflamatorias como son la leptina, la adiponectina, la IL6, el TNF alfa y la PCR ultrasensible.
3. Este componente inflamatorio puede producir disfunción endotelial y alteración de la hemostasia y de la fibrinólisis que conllevan a un estado de hipercoagulabilidad y aterogénesis que predispone a la aparición de complicaciones micro y macrovasculares.

OBJETIVOS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

1. Valorar las peculiaridades clínicas y antropométricas de la población con diabetes mellitus tipo 1 seguida en las consultas de pediatría del Hospital Universitario de Salamanca.
2. Analizar el componente inflamatorio existente en la diabetes mellitus tipo 1 mediante la medida de la PCR ultrasensible, la IL6, el TNF alfa, la leptina y la adiponectina.
3. Valorar la coagulación, el daño endotelial y la fibrinólisis en la diabetes mellitus tipo 1 mediante determinación de la coagulación básica, la homocisteína, el factor von Willebrand, la antitrombina III, el fibrinógeno y el factor activador del inhibidor del plasminógeno tipo 1.
4. Correlacionar las variables clínicas, antropométricas, el componente inflamatorio y la coagulación con el grado de control metabólico, el tiempo de evolución y el tipo de tratamiento de la diabetes.
5. Evaluar comparativamente las peculiaridades clínicas, antropométricas, inflamatorias y de la coagulación de la diabetes mellitus tipo 1 con las de la población control.

PACIENTES Y MÉTODOS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

El diseño del estudio fue descriptivo, transversal y observacional realizado en la unidad de Endocrinología Pediátrica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. El Hospital de Salamanca es referencia de las provincias de León, Zamora, Ávila y Salamanca y recibe pacientes de forma puntual de Cáceres y otras provincias.

Se estableció un grupo caso (pacientes diabéticos) y un grupo control ajustado en cuanto a sexo, características antropométricas y estadio de Tanner²⁷⁴ con el grupo objeto de estudio.

La recogida de datos duró un año, momento en el que comenzó la indexación y el análisis de los datos.

El presente trabajo cumplió con los principios éticos de la declaración de Helsinki y fue declarado como APTO por el comité de ética del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (Anexo I). A todos los participantes y a sus progenitores se les explicó la finalidad del estudio firmando un consentimiento informado los progenitores y aquellos sujetos con una edad superior a los 12 años (Anexo II).

TABLAS UTILIZADAS

Se usaron como referencia de las medidas de peso, talla e IMC las tablas publicadas en el año 2010 por el estudio transversal español²⁷⁵. Para la tensión arterial se emplearon las tablas del grupo de trabajo de HTA en niños y adolescentes²⁷⁶.

SELECCIÓN DE LAS POBLACIONES A ESTUDIO

Se seleccionaron dos grupos para el estudio; el grupo caso al que se llamó grupo diabetes, y un grupo control.

Población diabética:

Se recogieron los 89 pacientes con DM1 en seguimiento por la Unidad de Endocrinología Infantil del Complejo Asistencial Universitario de

Salamanca. Como criterios de inclusión en este grupo se establecieron los fijados por la ADA en 2014 previa aceptación por parte de los padres para participar en el estudio (en niños mayores de 12 años se obtuvo también la aceptación por parte del paciente).

Población control:

En este grupo control se seleccionaron 89 niños. Los criterios de inclusión fueron estar ajustados en cuanto a edad, sexo, talla, peso, IMC y estadio puberal respecto al grupo caso. Como criterio de exclusión padecer cualquier patología que pudiera influir de forma significativa sobre los factores inflamatorios o de coagulación.

MUESTRAS SANGUÍNEAS

Después de 12 horas de ayuno, entre las 8 y las 11 de la mañana, se obtuvieron las muestras por venopunción de la vena cubital; se recogieron en diferentes tipos de tubos de acuerdo al parámetro a determinar. Las determinaciones fueron las siguientes:

- Hemograma (Tubo con EDTA).
- Bioquímica básica (Tubo con gelosa): Glucosa, creatinina, ácido úrico.
- Estudio hepático (Tubo con gelosa): AST, ALT.
- PCR ultrasensible (Tubo con gelosa).
- Metabolismo lipídico (Tubo con gelosa): Colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos.
- Metabolismo del hierro (Tubo con gelosa): Sideremia, ferritina, transferrina e índice de saturación.
- Estudio diabetológico (Tubo con EDTA): HbA1c.

- Estudio tiroideo (Tubo con gelosa): TSH, T4 libre.
- Coagulación básica (Tubo con citrato): Tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), fibrinógeno.
- Otro parámetros de la hemostasia (Tubo con citrato): FVIII:C, FVW antigénico, FVW Ac.
- Estudio de trombofilia (Tubo con citrato): HCN, ATIII y PAI-1.
- Leptina (Tubo con gelosa).
- Adiponectina (Tubo con gelosa).
- IL6 (Tubo con gelosa).
- TNF α (Tubo con gelosa).

En total se obtuvieron de cada paciente 5 tubos con muestras sanguíneas. Uno con gelosa, uno con citrato y tres con EDTA.

METODOLOGÍA DE LAS DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Entre todas las determinaciones analíticas destacamos:

- Glucosa: Se determinó mediante un test enzimático colorimétrico con un analizador Modular DPP (Roche Diagnostics®).
- PCR ultrasensible: Se determinó con una prueba inmunturbidimétrica (Roche Diagnostics®) mediante un Modular DPP de RocheDiagnostics®.
- Metabolismo lipídico: Los niveles de colesterol y sus fracciones en suero se determinaron mediante un test enzimático colorimétrico mediante un analizador Modular DPP de Roche Diagnostics®.

•HbA1c: Se determinó con un analizador automático ADAMS HA-8160 (Menarini®) mediante cromatografía líquida de alta presión por intercambio iónico de alta presión. El coeficiente de variación intraprueba referido por el laboratorio es de 0,87% mientras que el interprueba fue 0,92%.

•Complejo del FVW: Se calculó mediante medición de la actividad del cofactor de la ristocetina por aglutinación de plaquetas existentes en el reactivo (Siemens Healthcare Diagnostics Products GMBH®, Germany). La sensibilidad del ensayo fue del 6,1-16,2%. La especificidad de la prueba fue del 100%. El coeficiente de variación intraensayo e interensayo según la casa comercial es 8-9,6% y 8-10,3% respectivamente.

•HCN: La determinación de los niveles de HCN fueron realizados mediante enzimoimmunoanálisis (Axis-Shield Diagnostics Ltd®, Laboratory, Inglaterra). Puede existir reactividad cruzada en aquellos sujetos que han recibido S-adenosil-metionina (16%) y otros medicamentos (<1%) como adenosina, metionina, cistatina y glutatión. El coeficiente de variación intraensayo máximo es 8%, el interensayo es 10%.

•ATIII: Los niveles circulantes de ATIII se determinaron mediante la cuantificación de una cantidad fija conocida de trombina presente en el reactivo (Diagnostica Stago®, Roche Laboratory). La prueba presenta reactividad cruzada con los inhibidores de la trombina (hirudina y argotrobán). El coeficiente de variación intraensayo aportado es de entre el 2,6 y el 5%. El coeficiente de variación interensayo aportado entre el 4,8% y el 6,7%

•PAI-1: La determinación de los niveles de PAI-1 fue realizada mediante colorimetría (Diagnostica Stago®, Francia). Puede presentar pequeña reactividad cuando exista unas concentraciones de heparina superiores a 1

UI/ml.

•Leptina: El análisis de leptina se realizó mediante ELISA (Mediagnost laboratory®, E07, Alemania) usando dos anticuerpos de alta afinidad. La sensibilidad del ensayo fue 0,2 ng/ml. La prueba es específica para leptina humana pero tiene una pequeña reacción cruzada con leptina de ratón, rata, caballo y oveja. Los coeficiente de variación intra e interensayo son de 4,6% y 6,7% respectivamente.

•Adiponectina: La adiponectina se cuantificó mediante ELISA (Mediagnost laboratory, E09, Alemania) usando para ello dos anticuerpos de alta afinidad. La sensibilidad del ensayo fue inferior a 0,6 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo es de 2,5%, el interensayo es de 7,7%.

•IL6: La determinación de los niveles de IL6 fueron determinados mediante inmunometría enzimática por quimioluminiscencia (IMMULITE, Siemens Medical Solutions Diagnostics®, Inglaterra) con el analizador IMMULITE 1000, usando dos anticuerpos de alta afinidad. La sensibilidad y la especificidad del ensayo fueron 2 pg/ml y del 100%. Los coeficiente de variación intra e interensayo son de 5,1% y 7,3% respectivamente.

•TNF α : Se cuantificó mediante inmunometría quimioluminiscente (IMMULITE®, Siemens Medical Solutions Diagnostics®, Inglaterra) con el analizador IMMULITE 1000, usando dos anticuerpos de alta afinidad. La sensibilidad del ensayo fue 1,7 pg/ml. La especificidad fue del 100%. Los coeficiente de variación intra e interensayo son de 3,6% y 4,4%.

OBTENCIÓN DE DATOS NO SANGUÍNEOS

En todos los pacientes se obtuvieron los siguientes datos:

•Edad: Calculada en su forma decimal con un máximo de dos decimales.

Pacientes y métodos

- Antecedentes familiares de autoinmunidad, obesidad, HTA, dislipemia, coagulopatías y DM tipo 2. Se recogieron datos del padre, madre, hermanos, abuelos y tíos- primos.

Las medidas antropométricas recogidas en todos los pacientes fueron las siguientes:

- Talla: Medida en cm con un decimal, se usó un tallímetro HOLTAIN LIMITED CRYMYCH, DYFED, con una precisión de ± 1 mm. Para la medición se situó al sujeto de pie, en inspiración, sujeto por la mastoides, descalzo, con la mirada paralela al suelo, los hombros rectos y los brazos a ambos lados en posición anatómica. Posteriormente se bajó el tope móvil superior del tallímetro hasta presionar levemente la cabeza del sujeto. Se cuantificó en cm.

- Peso: Medido en kg, y con un decimal. Se determinó mediante una báscula SECA PROFESIONAL SOEHNLE con una precisión de ± 100 gramos. Estando la balanza en una superficie lisa y estable se situó al sujeto en ropa interior y descalzo durante unos segundos hasta que el peso marcado por la báscula se estabilizó. Se cuantificó en kg.

- IMC: Redondeado a un máximo de dos decimales.

- Tensión arterial: Se registró la TAS y la TAD. Fue medida con una precisión de ± 1 milímetros de mercurio (mmHg) mediante el esfigmomanómetro WELCHALLYN MAXIMO SET. La medición se realizó tras haber realizado la historia clínica y la exploración física estando el sujeto en sedestación.

Mediante la exploración física se obtuvo información de:

- Estadio puberal: para ello se usaron los estadios de Tanner²⁷⁴ y volumen

testicular en los varones utilizando el orquidómetro de Prader y el desarrollo mamario en las mujeres.

MANEJO DE DATOS

Los datos se indexaron mediante el programa de base de datos “Filemaker Pro Advanced 12.0.1.183” para Mac Os X en un ordenador “Mac Book Pro”.

Todas las medidas antropométricas (talla, peso, IMC) se transformaron a desviaciones estándar (DS) para poder comparar sujetos con diferente sexo y edad.

Los datos de TA se transformaron a DS para su comparación de forma independiente del sexo y la edad.

ESTUDIO ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos se ha utilizado el programa “IBM SPSS 21.0 para Mac Os” en un ordenador Mac Book Pro.

A todas las variables se las sometió al test de Kolmogorov-Smirnof para saber si seguían una distribución normal.

Se estableció un nivel de significación del 5%.

En primer lugar se realizó un estudio descriptivo de las variables para los dos grupos de niños, calculando la media como medida de tendencia central y la DS como medida de dispersión para las variables cuantitativas normales y para las que no seguían distribución normal la mediana como medida de tendencia central y los percentiles 25 y 75 como medida de dispersión. Para las variables cualitativas se han calculado tablas porcentuales.

Se han utilizado gráficos de barras y boxplot para representar las variables.

Tras el estudio descriptivo se han realizado los siguientes análisis:

En aquellos análisis en los que se incluía una variable no numérica o una variable que no siguiera una distribución normal se usaron test estadísticos no paramétricos. En el resto se usaron test paramétricos. Para comparar la media de una variable en diferentes grupos, se aplicaron la t de Student para

dos grupos y para más de dos se realizó un análisis de la varianza con sus contrastes tras el ANOVA mediante el test de Bonferroni. En el caso de la t de Student las variables debían seguir una distribución normal y, en el caso del ANOVA era necesario que se diera la homocedasticidad (homogeneidad de varianzas). Para comparar una variable en dos momentos distintos en el mismo grupo se usó la t de student para datos apareados.

Para las variables que no siguen una distribución normal, se aplicaron los test no paramétricos U de Mann Whitney, el test de Kruskal Wallis y el test de Wilcoxon.

Para comparar dos variables cualitativas se aplicó el test de la Chi-Cuadrado.

•Para determinar las posibles relaciones entre las variables se usó el coeficiente de correlación de Pearson para datos normales y el de Spearman para no normales. Se representó la posible relación entre las variables utilizando diagramas de dispersión simple.

RESULTADOS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las características de la muestra control enfrentadas a las del grupo de DM1 en el momento del estudio se muestran en la tabla 7 no pudiéndose demostrar diferencias estadísticamente significativas entre las variables en las que se realizó el apareamiento.

	DM1	Control	p
EDAD (años)	11,28 ± 3,69	11,46 ± 3,54	0,74
SEXO (H/M)	32/57	31/58	0,80
PUBERTAD (No/Sí)	34/55	31/58	0,64
PESO (kg)	42,86 ± 16,27	40,67 ± 15,38	0,36
PESO (DS)	0,01 ± 0,90	-0,25 ± 1,05	0,08
TALLA (cm)	145,08 ± 21,01	144,33 ± 18,45	0,80
TALLA (DS)	-0,09 ± 0,92	-0,28 ± 1,15	0,22
IMC (kg/m ²)	19,46 ± 3,36	18,76 ± 3,47	0,17
IMC (DS)	0,05 ± 0,84	-0,15 ± 0,98	0,14

TABLA 7: Características de las muestras de diabéticos y de controles. (H/M): hombre/mujer. DS: desviaciones estándar.

Se estratificaron los grupos en función del estadio puberal en prepuberales y puberales. En el grupo de niños que han iniciado pubertad no se puede demostrar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de niños con DM1 y el grupo de niños control exceptuando el peso en kilogramos que

Resultados

es mayor en el grupo de niños puberales diabéticos ($52,48 \pm 11,75$ vs $47,63 \pm 13,12$; $p=0,04$) sin que se puedan observar diferencias ni en el peso en DS ni en el IMC (tabla 8).

Puberales	DM1	Control	p
EDAD (años)	$13,69 \pm 1,77$	$13,36 \pm 2,67$	0,44
SEXO (H/M)	24/31	21/37	0,35
PESO (kg)	$52,48 \pm 11,75$	$47,63 \pm 13,12$	0,04
PESO (DS)	$0,01 \pm 0,90$	$-0,23 \pm 1,09$	0,20
TALLA (cm)	$158,07 \pm 10,05$	$154,21 \pm 12,33$	0,07
TALLA (DS)	$-0,11 \pm 0,97$	$-0,24 \pm 1,14$	0,51
IMC (kg/m^2)	$20,83 \pm 3,26$	$19,71 \pm 3,35$	0,07
IMC (DS)	$0,04 \pm 0,88$	$-0,16 \pm 1,01$	0,24

TABLA 8: Características de los niños puberales de ambos grupos. (H/M): hombre/mujer.
DS: desviaciones estándar.

Seleccionando únicamente los niños que no habían iniciado pubertad no se observan diferencias en ninguna de las variables por las que se realizó inicialmente el ajuste (tabla 9).

Prepuberales	DM1	Control	p
EDAD (años)	7,38 ± 2,44	7,92 ± 1,80	0,32
SEXO (H/M)	8/26	10/21	0,43
PESO (kg)	27,29 ± 8,69	27,65 ± 9,89	0,87
PESO (DS)	0 ± 0,89	-0,28 ± 0,96	0,22
TALLA (cm)	124,06 ± 16,59	125,82 ± 12,91	0,64
TALLA (DS)	-0,04 ± 0,98	-0,34 ± 1,18	0,26
IMC (kg/m ²)	17,23 ± 2,08	16,98 ± 3	0,69
IMC (DS)	0,06 ± 0,78	-0,12 ± 0,92	0,37

TABLA 9: Características de los niños prepuberales de ambos grupos. (H/M): hombre/mujer. DS: desviaciones estándar.

En cuanto a las características específicas de la muestra con DM1 el tiempo medio de evolución de los pacientes en el momento del estudio fue de $4,71 \pm 3,38$ años, sin que hubiera diferencias entre niños y niñas.

La HbA1c en el momento del estudio fue de $7,19 \pm 0,83\%$, sin que hubiera diferencias al separar por género. Casi la mitad de la muestra con DM1 (44,9%) tiene una HbA1c igual o inferior a 7% y sólo el 11,2% tiene una HbA1c significativamente alta (superior a 8%).

La dosis media de insulina por kilogramo de peso que empleaban en el momento del estudio era de $0,81 \pm 0,25$ UI/kg/d, con un porcentaje de dosis

Resultados

basal de $49,23 \pm 14,03\%$. Esta dosis media de insulina por kg presentaba correlación significativa con la edad de la muestra ($r=0,22$; $p=0,04$), correlación que desaparecía cuando creábamos dos grupos en función de la presencia de signos de pubertad (figura 20). Por otro lado los pacientes puberales presentaban unas mayores necesidades de insulina por kg respecto a los prepuberales ($0,94$ ($0,82-1,07$) vs $0,77$ ($0,63-0,83$) UI/kg/día; $p=0,03$).

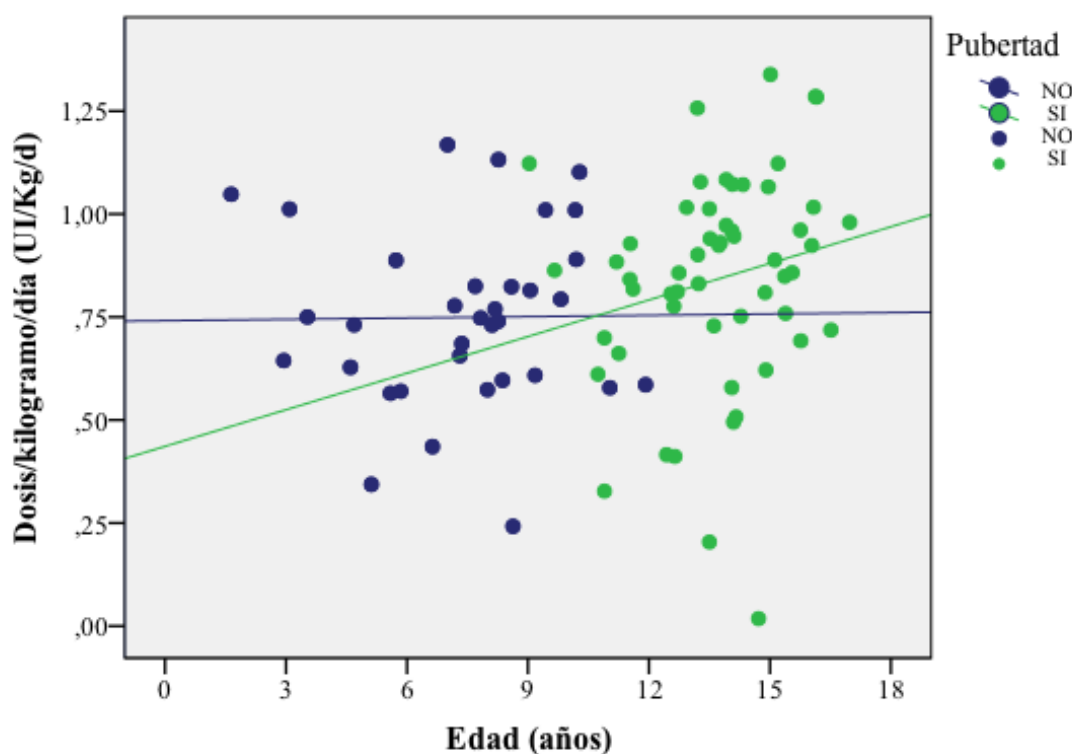


FIGURA 20: Correlación entre edad y UI de insulina/kg/d en función de la pubertad (prepúberes $p=0,95$, púberes $p=0,14$).

Se demuestran así mismo diferencias estadísticamente significativas entre la media del porcentaje de dosis basal y del porcentaje de dosis en bolo entre los púberes y los prepúberes en el momento del estudio (%medio basal \pm DS

/ %medio bolo \pm DS = $44,41 \pm 13,85/55,59 \pm 13,85$ en prepúberes vs $52,21 \pm 13,42 / 47,79 \pm 13,42$ en púberes, $p=0,01$).

El 51,7% tenía tratamiento con infusor subcutáneo de insulina, frente al 48,3% con múltiples dosis de insulina. En los pacientes con ISCI se demostró un tiempo de evolución mayor de forma estadísticamente significativa respecto a los tratados con MDI ($5,73 \pm 3,12$ frente a $3,73 \pm 3,36$ años; $p<0,01$) (tabla 10) y una mayor ratio de insulina en forma de bolo frente a la insulina basal en el momento del estudio ($54,39/45,61$ frente a $47,75/52,25\%$; $p=0,02$), no hallándose otras diferencias estadísticas en el resto de características generales entre los tratados con ISCI y los tratados con MDI.

	MDI	ISCI	p
Edad (años)	$11,09 \pm 3,92$	$11,59 \pm 3,44$	0,52
Sexo (H/M)	19/24	13/33	0,14
Pubertad (No/Sí)	16/27	18/28	0,96
Evolución (años)	$3,73 \pm 3,36$	$5,73 \pm 3,12$	$<0,01$
HbA1c (%)	$7,2 \pm 0,99$	$7,19 \pm 0,66$	0,97
Peso (DS)	$0,01 \pm 1,05$	$0,01 \pm 0,75$	0,98
Talla (DS)	$-0,02 \pm 1,04$	$-0,16 \pm 0,92$	0,51
IMC (DS)	$0,02 \pm 1$	$0,1 \pm 0,67$	0,65

TABLA 10: Comparación de las características generales de los pacientes tratados con ISCI y los tratados con MDI. (H/M): hombre/mujer. DS: desviaciones estándar.

Resultados

Las necesidades de insulina en el momento del estudio expresadas en UI/kg/d fueron mayores de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más alta en todos los grupos (haciendo cuatro comparaciones en las que se enfrentan dos a dos según fueran menor o mayor de: 6,5-7-7,5 y 8% respectivamente) (tabla 11).

Corte de HbA1c	UI/kg/d en los de HbA1c Menor de	UI/kg/d en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	0,83 (0,68-0,96)	0,87 (0,73-1,01)	<0,01
7%	0,75 (0,58-0,86)	0,92 (0,73-1,01)	<0,01
7,5%	0,79 (0,61-0,92)	0,97 (0,72-1,08)	0,02
8%	0,84 (0,73-0,96)	1,07 (0,78-1,25)	0,02

TABLA 11: Comparación de las necesidades de insulina por kilogramo de peso y día según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

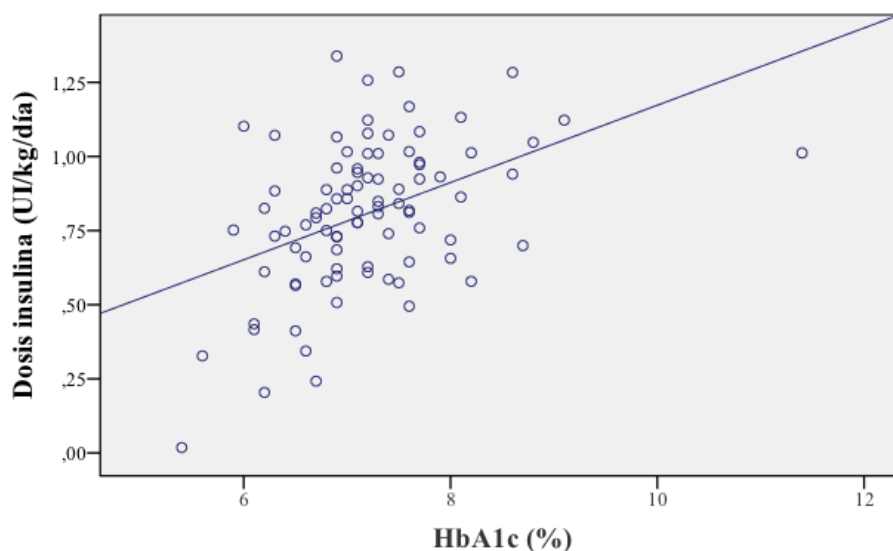


FIGURA 21: Correlación entre necesidades de insulina y HbA1c (p<0,01).

Demostrándose así mismo una correlación positiva entre ambas variables (HbA1c y necesidades de insulina por kilogramo de peso y día) de forma estadísticamente significativa ($r=0,433$; $p<0,01$) (figura 21).

Otros hallazgos:

Estratificando ambas muestras (diabéticos y controles) según su estadio puberal (en pre y puberales) encontramos diferencias estadísticamente significativas en los puberales en las cifras de TAS ($113,56 \pm 10,05$ mmHg en diabéticos frente a $109,09 \pm 10,64$ mmHg en controles, $p=0,03$).

En la muestra de DM1, estratificándolos por HbA1c (haciendo cuatro comparaciones en las que se enfrentan dos a dos según fueran menor o mayor de: 6,5-7-7,5 y 8% respectivamente), la DS de TAS era mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más alta en todos los grupos (Anexo III).

La DS de TAD era mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más alta en los subgrupos de HbA1c de 7,5 y 8% (Anexo III).

Se demuestra así mismo correlación entre la HbA1c y la TAD en DS ($r=0,35$; $p<0,01$) y la TAS en DS ($r=0,29$; $p<0,01$).

CIRCUNSTANCIAS AL DEBUT

La media de edad de presentación fue de $6,58 \pm 3,61$ años. De los 89 pacientes con diabetes, 13 (14,6%) debutaron con una edad igual o inferior a los 2 años, siendo mayores de 12 años el 9% de la muestra (8 niños). Separando por sexo, encontramos diferencias estadísticamente significativas

Resultados

en la edad de presentación, que en niñas era de $5,93 \pm 3,43$ años frente a los $7,73 \pm 3,68$ años en niños con una $p=0,02$ (figura 22).

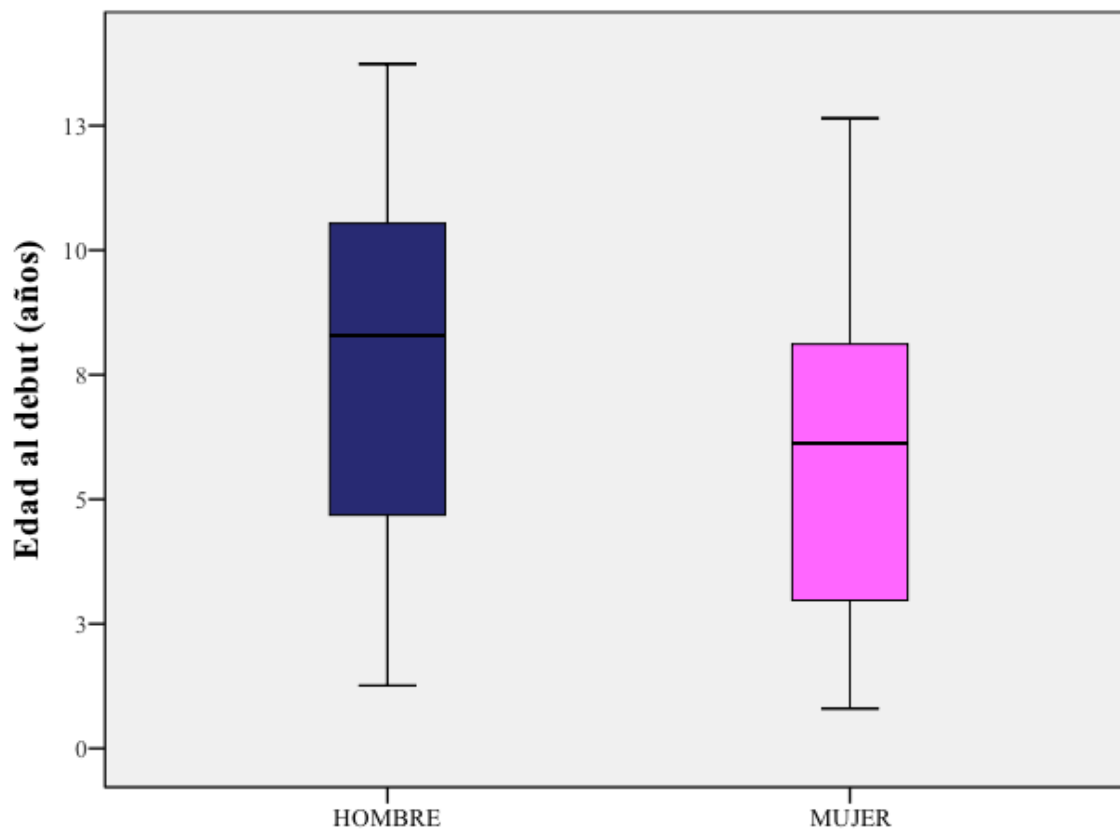


FIGURA 22: Edad al debut de la DM1 según el sexo ($p=0,02$).

Existía un predominio del sexo femenino sobre el masculino en los pacientes diabéticos (57/32), sin demostrar diferencias estadísticamente significativas en lo referente al género al dividir por grupos de edad ($p=0,27$; figura 23).

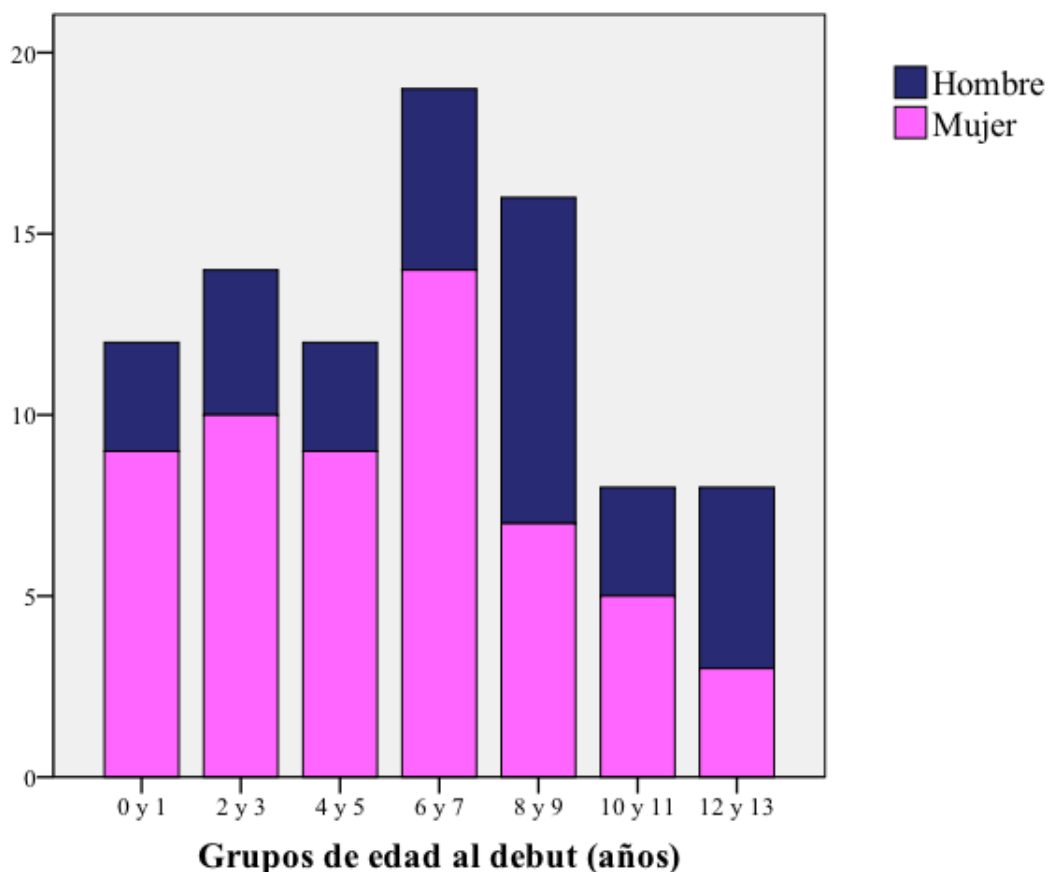


FIGURA 23: Distribución al debut de la DM1 según el sexo y grupo de edad.

El 13,49% de la muestra (12 pacientes) mostraba algún signo de pubertad en el momento del debut. Relacionando la pubertad con el género no se demostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,28$) siendo del sexo femenino el 66,2% de los sujetos prepuberales y el 50% de los puberales.

La talla al debut era de $116,38 \pm 29,82$ cm ($0,10 \pm 1,06$ DS), el peso era de $23,87 \pm 11,77$ kg ($-0,35 \pm 0,91$ DS) y el IMC era de 15,5 (14,7-17,4) con un IMC en DS de $-0,53 \pm 0,88$. Comparando entre varones y mujeres no se demostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables antropométricas al debut excepto en el peso (varones $27,8 \pm 10,5$

Resultados

kg; mujeres $22,5 \pm 11,4$ kg; $p=0,04$). No se demostraron diferencias en el peso, talla o IMC en DS en relación a haber debutado en época puberal o prepuberal.

La dosis media de insulina empleada por kilogramo de peso al debut fue de $0,68 \pm 0,31$ UI/kg/d, con una distribución entre basal y bolo de 46,34/53,66%. Comparando entre varones y mujeres no se encontraron diferencias en las dosis totales ni en la distribución entre insulina basal e insulina bolo al debut. Al comparar las necesidades de insulina al debut teniendo en cuenta si los pacientes habían iniciado pubertad se observan mayores necesidades de insulina en los pacientes puberales sin alterarse la proporción entre la insulina rápida y la lenta (tabla 12). En relación con esto se observó una correlación significativa de la edad al debut con la dosis total de insulina ($r=0,76$; $p<0,01$), dosis de rápida ($r=0,72$; $p<0,01$), dosis de lenta ($r=0,74$; $p<0,01$) y la dosis de insulina por kg ($r=0,27$; $p=0,01$). La correlación entre edad y dosis por kilogramo de peso y día no se encuentra al separar la muestra en puberales y prepuberales.

En el debut:	Prepuberal	Puberal	p
Dosis total (U/día)	$13,6 \pm 9,6$	$37,7 \pm 12,9$	$<0,01$
Dosis kg (U/Kg/día)	$0,65 \pm 0,28$	$0,93 \pm 0,22$	$<0,01$
Dosis lenta (U/día)	$6,2 \pm 4,8$	$17,4 \pm 5,6$	$<0,01$
Dosis rápida (U/día)	$7,4 \pm 5,3$	$20,3 \pm 8,4$	$<0,01$
Porcentaje de lenta (%)	$45,6 \pm 21$	$51 \pm 17,5$	$0,39$
Porcentaje de rápida (%)	$54,4 \pm 21$	$49 \pm 17,5$	$0,39$

TABLA 12: Comparación de las necesidades de insulina según presencia o no de pubertad al debut.

El pH al debut fue de 7,32 [7,22-7,36], siendo el pH mínimo de la muestra de 6,80. De todos los pacientes que debutaron con diabetes el 10,23% presentó una cetoacidosis grave definida por pH inferior a 7,1. El 11,36% debutaron con un grado moderado de acidosis definido por un pH entre 7,1 y 7,2. El 20,45% correspondían a un grado leve de acidosis (pH 7,2-7,3). Un 57,96% de la muestra debutaron sin cetoacidosis. Así mismo se objetivaba una correlación positiva entre la edad de presentación y el pH ($r=0,243$; $p=0,02$) (figura 24).

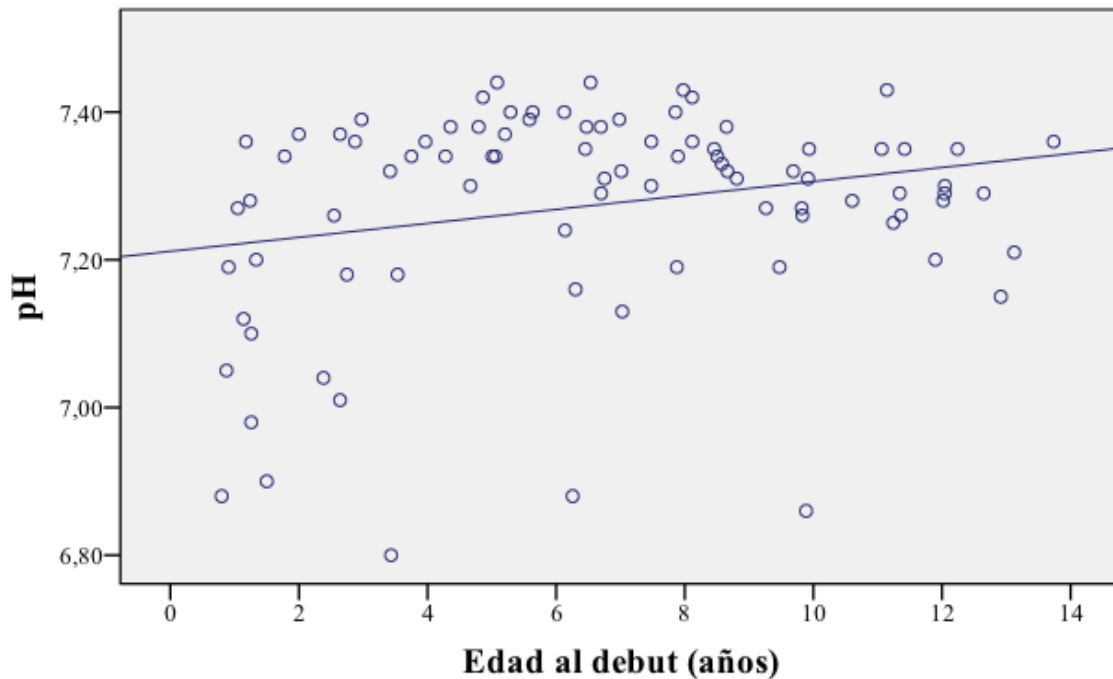


FIGURA 24: Correlación entre pH y edad al debut ($p=0,02$).

En relación con lo anterior se demostraron diferencias estadísticamente significativas en la posibilidad de presentar un pH inferior a 7,2 y los grupos de edad ($p<0,01$), de manera que de los 21 pacientes (23,5% de la muestra)

Resultados

que presentaron un pH inferior a 7,2; 13 eran menores de 4 años y 8 no llegaban a los 2 años (figura 25).

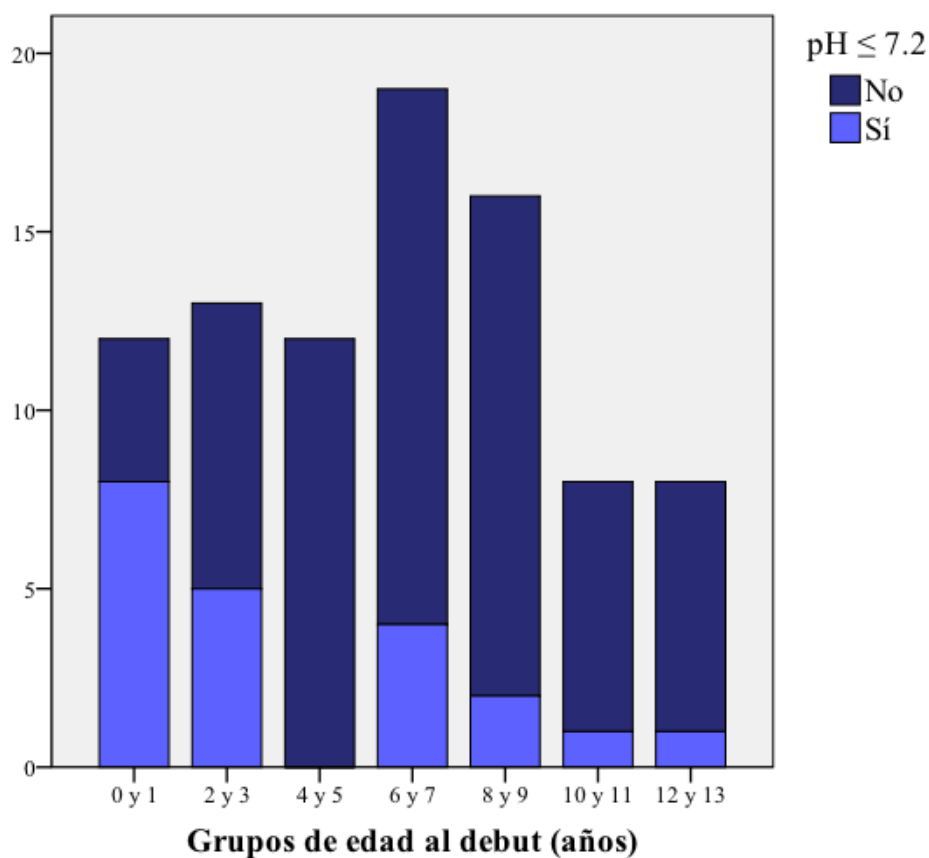


FIGURA 25: Distribución al debut de la DM1 según el pH y grupo de edad.

La HbA1c al debut se situaba en $10,69 \pm 2,54\%$, con un rango de (4,8-16,1%), sólo un caso presentó una HbA1c al diagnóstico inferior a 6,5% (niña de 12 años con 4,8% de HbA1c). No se demostraron diferencias estadísticas de HbA1c al debut en lo referente al sexo o al estadio puberal. Por otro lado relacionando la edad con la HbA1c al debut se encontró correlación positiva ($r=0,40$; $p<0,01$).

Refiriéndonos al estudio de marcadores de riesgo de DM1, un 4,2% de los niños que tenían solicitado el HLA, no presentaban ningún HLA de riesgo, un 36,1% tenían los dos positivos, y un 59,7% tenían alguno de los dos (58,8

% HLA DR3 y 41,2% HLA DR4). La distribución de los HLA de riesgo y la presencia de anticuerpos de DM1 se puede ver en la tabla 12. De los 3 niños en los que se podía dudar del diagnóstico por no presentar ningún HLA de riesgo, uno de ellos presentaba dos marcadores de inmunidad pancreática (antiinsulina e IA2 positivo) y los otros dos tenían tres autoanticuerpos positivos. Sólo un 3,75% no tenían anticuerpos positivos al diagnóstico pero tenían HLA de riesgo para diabetes (tabla 13).

	Negativo	Positivo
Anti insulina (%)	66,7	33,33
Anti IA2 (%)	34,78	65,22
Anti GAD (%)	41,89	58,11
Anti islote pancreático(%)	46,67	53,33
HLA DR3 (%)	29,17	70,83
HLA DR4 (%)	38,89	61,11

TABLA 13: Marcadores de diabetes en la muestra.

Otros hallazgos:

Para analizar cómo había evolucionado las DS de talla, peso e IMC comparamos el momento del debut con el momento del estudio observando diferencias estadísticamente significativas en las tres variables; la talla había disminuido $0,17 \pm 0,71$ DS ($p=0,03$) (figura 26), el peso había aumentado ($p<0,01$), con un incremento de $0,37 \pm 0,67$ DS lo que daba lugar a un aumento significativo en el IMC ($p<0,01$) de $0,59 \pm 0,82$ DS (figura 27).

Resultados

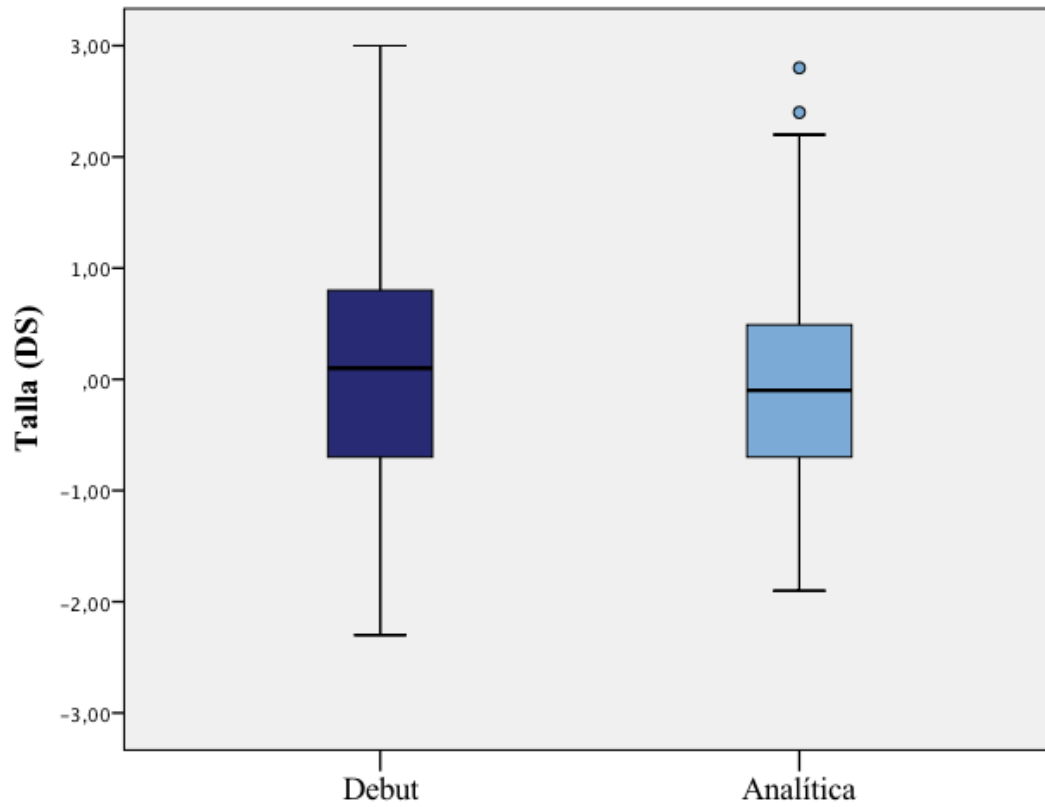


FIGURA 26: Evolución de la talla en DS desde el debut ($p=0,03$)

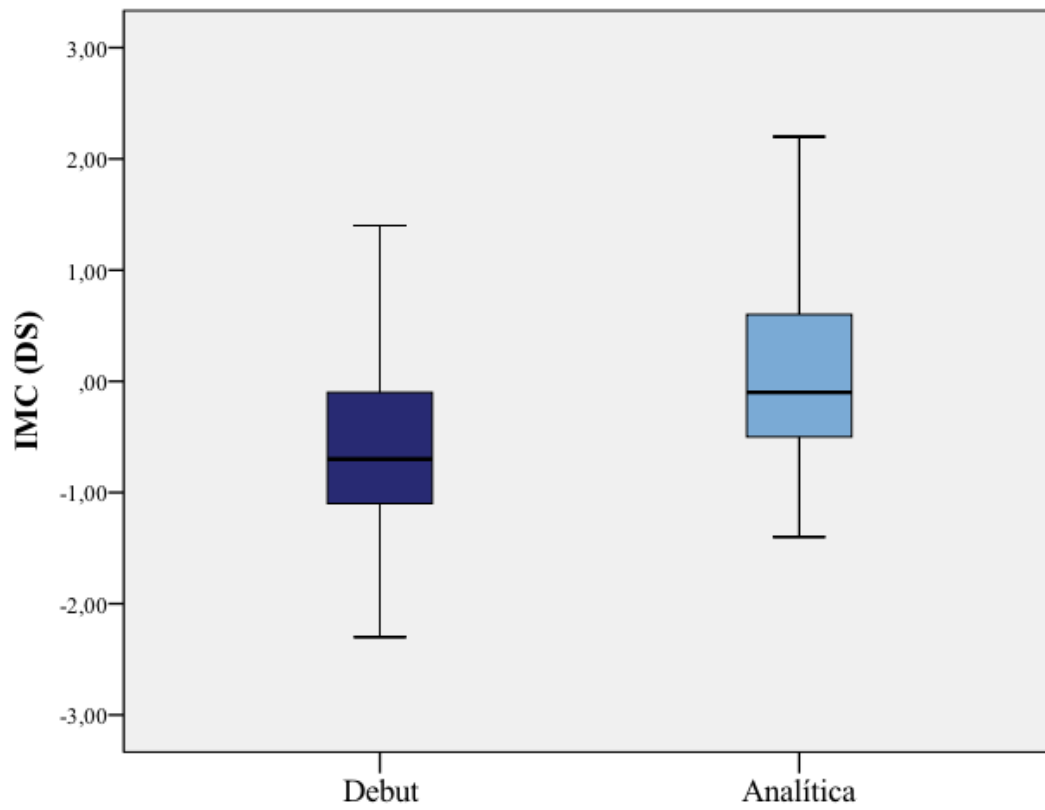


FIGURA 27: Evolución del IMC en DS desde el debut ($p<0,01$).

DATOS ANALÍTICOS BÁSICOS

Comparando el metabolismo hidrocarbonado entre los dos grupos de estudio se demuestra diferencia en los valores de glucemia (144 (113-205,5) frente a 86 (81-91) mg/dL; $p < 0,01$), HbA1c ($7,19 \pm 0,83$ frente a $4,93 \pm 0,46\%$; $p < 0,01$) y péptido C (0,03 (0,02 - 0,22) frente a 2,02 (1,48 - 3,01) ng/mL; $p < 0,01$).

Los niveles de colesterol HDL eran superiores en los pacientes con DM1 ($67,27 \pm 16,25$ frente a $62,15 \pm 14,01$ mg/dL; $p = 0,03$), los TGC eran más bajos en los diabéticos (51 (45 - 64,5) frente a 56 (48 - 77) mg/dL; $p = 0,03$) sin poderse demostrar otras diferencias en los niveles de colesterol total o colesterol LDL.

	DM1	Control	p
Creatinina (mg/dL)	$0,56 \pm 0,14$	$0,58 \pm 0,16$	0,49
Úrico (mg/dL)	$3,53 \pm 0,89$	$4,10 \pm 0,98$	$<0,01$
AST (U/L)	$21,02 \pm 5,72$	$23,36 \pm 6,13$	0,01
ALT (U/L)	15 (11-18)	16 (12-19)	0,11
Hierro (mcg/dL)	$87,4 \pm 31,1$	$85 \pm 33,2$	0,79
IS (%)	$26,1 \pm 9,5$	$24,7 \pm 10,1$	0,33
Transferrina (mg/dL)	$265,71 \pm 33,60$	$279,54 \pm 35,03$	0,01
CFT (mcg/dL)	$338,07 \pm 42,89$	$357,71 \pm 45,88$	0,01

TABLA 14: Comparación entre datos bioquímicos en ambas muestras. IS: índice de saturación. CFT: capacidad de fijación de la transferrina.

Resultados

Analizando otros parámetros generales de la bioquímica se observan diferencias significativas, con niveles más bajos en DM1, en los valores de ácido úrico ($p < 0,01$), AST ($p = 0,01$), transferrina ($p = 0,01$) y capacidad de fijación de la transferrina ($p = 0,01$). No se encuentran otras diferencias en otros parámetros relacionados (tabla 14).

Los niveles de ácido úrico son mayores de forma estadísticamente significativa en la muestra control que en la muestra con DM1 (figura 28).

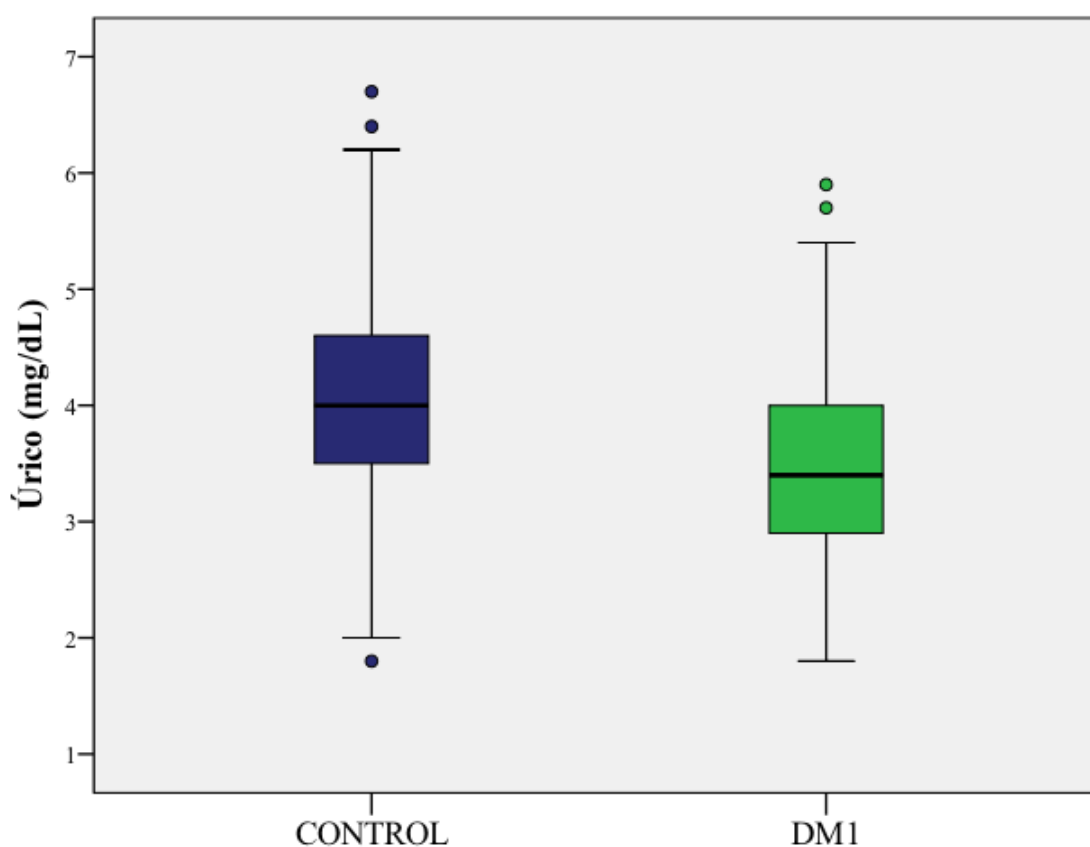


FIGURA 28: Comparación de los niveles de ácido úrico entre ambas muestras ($p < 0,01$).

Los niveles de AST son más altos de forma estadísticamente significativa en controles respecto a diabéticos (figura 29).

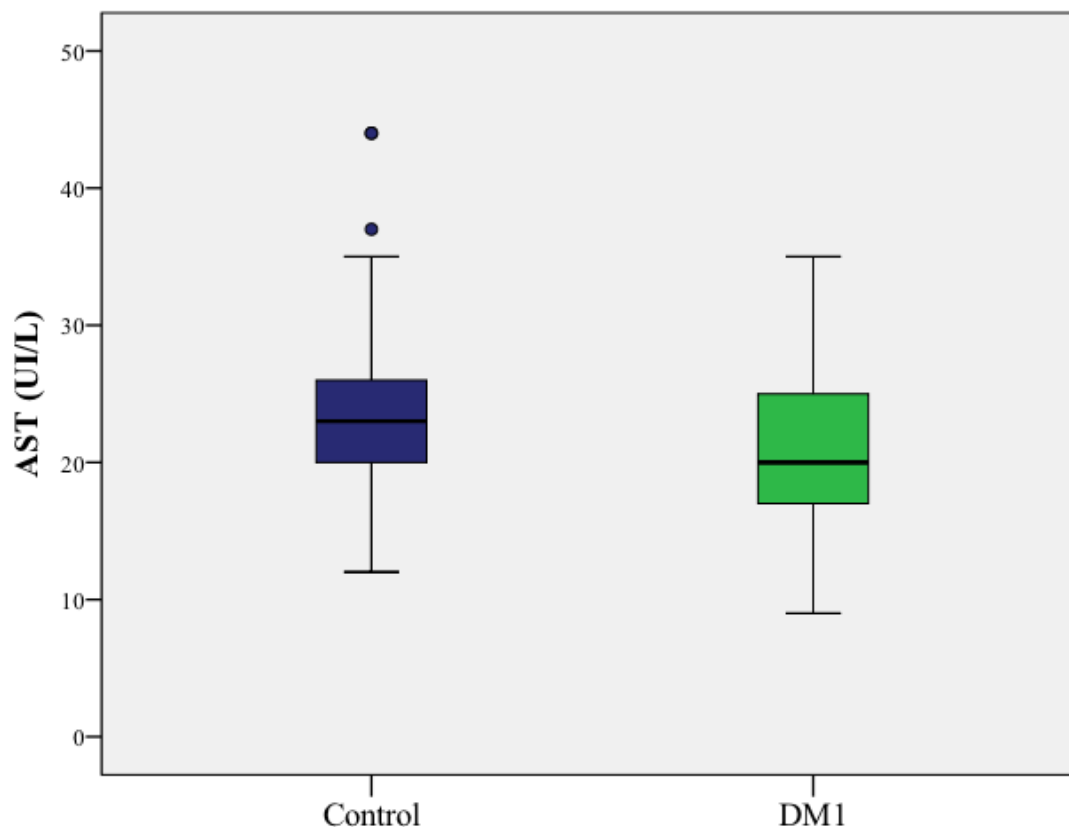


FIGURA 29: Comparación de los niveles de AST entre ambas muestras ($p=0,01$).

Analizando posibles factores que puedan influir en la aparición de diferencias en estos parámetros, se realiza una correlación de estas determinaciones con la edad, objetivando relación significativa con la ALT ($r=-0,18$; $p=0,01$), AST ($r=0,51$; $p=<0,01$), creatinina ($r=0,78$; $p=<0,01$) y urato ($r=0,29$; $p<0,01$). Así mismo se realizan estas mismas comparaciones estratificando la muestra global por pubertad, encontrando que estas diferencias se mantienen si dividimos la muestra según tengan o no pubertad. Estudiando una posible correlación entre la edad y los valores de AST, en controles encontramos una correlación negativa ($r=-0,48$; $p<0,01$), al igual que la que podemos demostrar en el grupo de diabéticos ($r=-0,58$; $p<0,01$) (figura 30).

Resultados

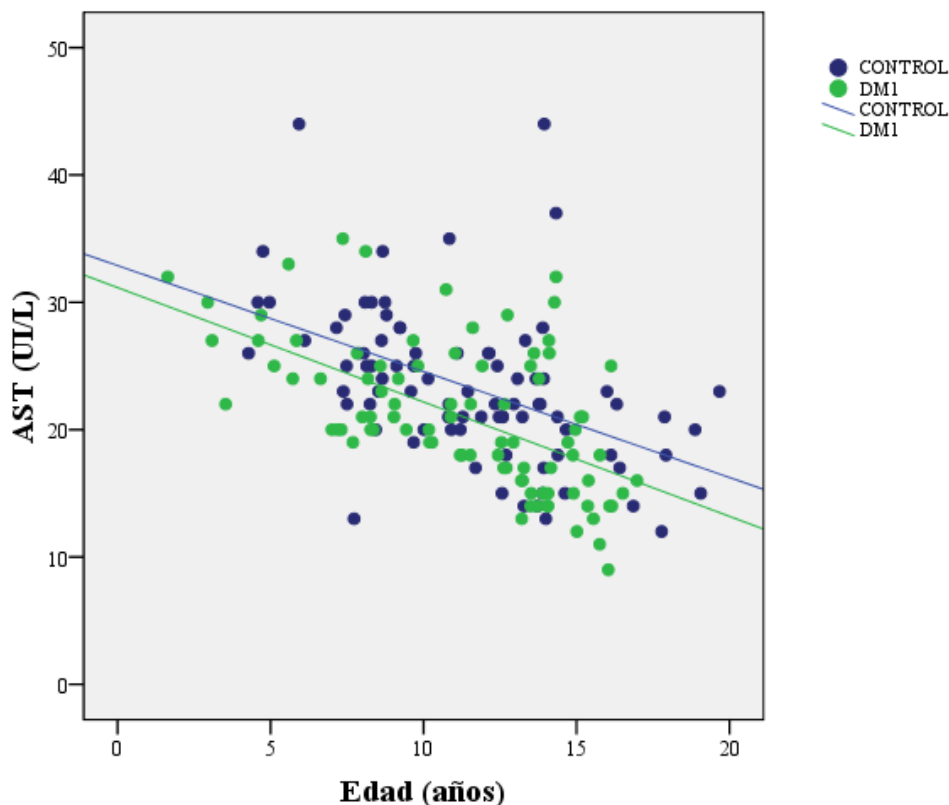


FIGURA 30: Correlación entre la edad y los niveles de AST en ambas muestras (diabéticos $p < 0,01$, controles $p < 0,01$).

En lo concerniente a la posible correlación entre los valores de ALT y edad, en casos encontramos correlación negativa ($r = -0,21$; $p = 0,04$) que no se puede demostrar en controles ($r = -0,17$, $p = 0,12$).

En el hemograma no se demostraron diferencias de los DM1 respecto al grupo control en referencia a neutrófilos, linfocitos, eosinófilos o plaquetas.

Importancia del tiempo de evolución de la DM1:

Separando por tiempo de evolución (1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años) encontramos diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables entre los distintos grupos:

La AST fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de menor evolución respecto al de mayor evolución en todos los subgrupos

analizados (anexo III). Se demostró así mismo correlación estadísticamente significativa entre los niveles de AST y el tiempo de evolución ($r=-0,343$; $p<0,01$), correlación que desaparecía al controlar por edad.

La creatinina fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de mayor evolución respecto al de menor evolución en todos los subgrupos analizados (Anexo III). Demostrándose correlación estadísticamente significativa de los valores de creatinina con la edad en el momento del estudio ($r=0,798$; $p<0,01$) y el tiempo de evolución de la diabetes ($r=0,431$; $p<0,01$), significación que como sucede con los valores de AST desaparece al controlar la correlación por el factor edad.

El colesterol total fue más alto de forma estadísticamente significativa en los de más de un año de evolución respecto a los de menos de un año de evolución ($172,22 \pm 30,26$ frente a $152,42 \pm 20,84$ mg/dL; $p=0,03$), pero esta significación estadística no se pudo demostrar en el resto de grupos (Anexo III).

El HDL colesterol fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de mayor evolución respecto al de menor evolución en todos los subgrupos analizados hasta los 3 años de evolución (Anexo III).

La HbA1c en el momento del estudio también fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de mayor evolución respecto al de menor evolución en el primer año de evolución, no encontrando después significación estadística en esta diferencia (Anexo III).

El péptido C fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de menor evolución respecto al de mayor evolución en todos los subgrupos analizados (Anexo III). Se demostró así mismo correlación negativa entre el

Resultados

tiempo de evolución y los niveles de péptido C de forma estadísticamente significativa ($r=-0,41$; $p<0,01$) (figura 31).

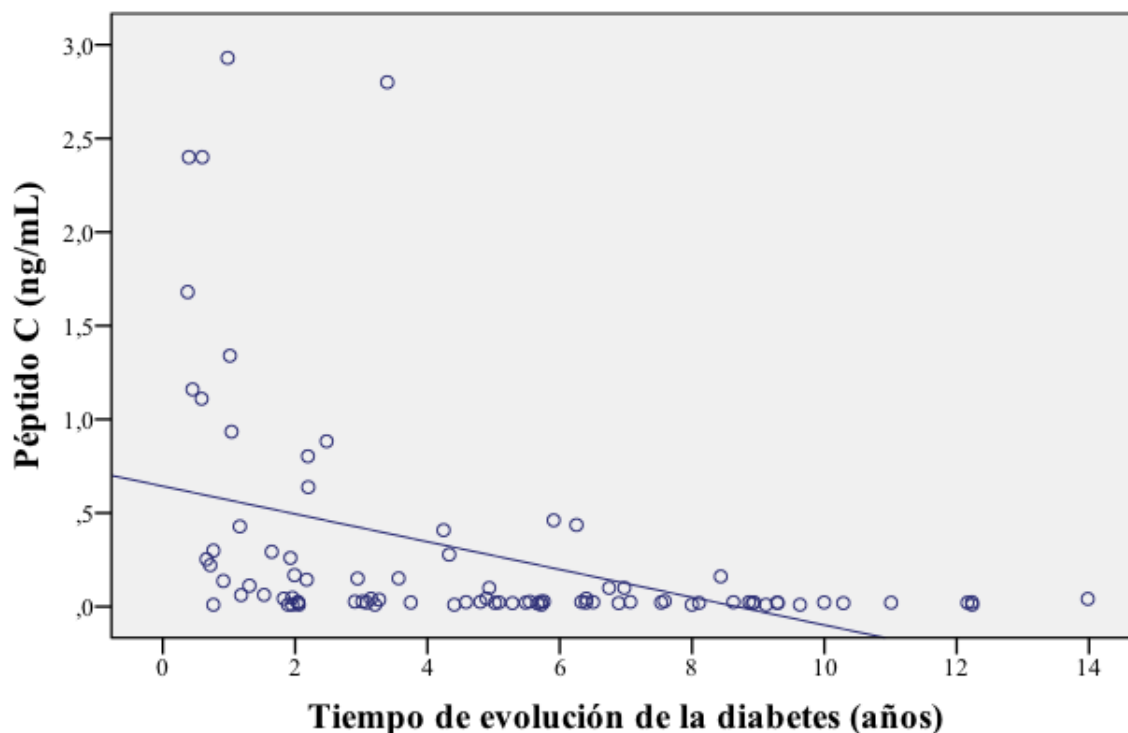


FIGURA 31: Correlación entre péptido C y tiempo de evolución de la DM1 ($p<0,01$).

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el resto de parámetros analíticos básicos (incluido el hemograma) según el tiempo de evolución.

Importancia de los niveles de HbA1c:

Se realizó un análisis separando por niveles de HbA1c en el momento del estudio (6.5, 7, 7.5 y 8%) encontramos diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables entre los distintos grupos:

La AST era mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más baja en los subgrupos de HbA1c de 6,5 y 7 (tabla 15), pero no se demostró correlación entre ambos parámetros ($p=0,19$) (figura 32).

Corte de HbA1c	AST (UI/L) en los de HbA1c Menor de	AST (UI/L) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	24,37 ± 5,20	20,11 ± 5,55	<0,01
7%	22,85 ± 5,93	19,53 ± 5,14	<0,01
7,5%	19,83 ± 5,87	21,46 ± 5,65	0,24
8%	20,5 ± 6,45	21,09 ± 5,67	0,76

TABLA 15: Comparación de los niveles de AST según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

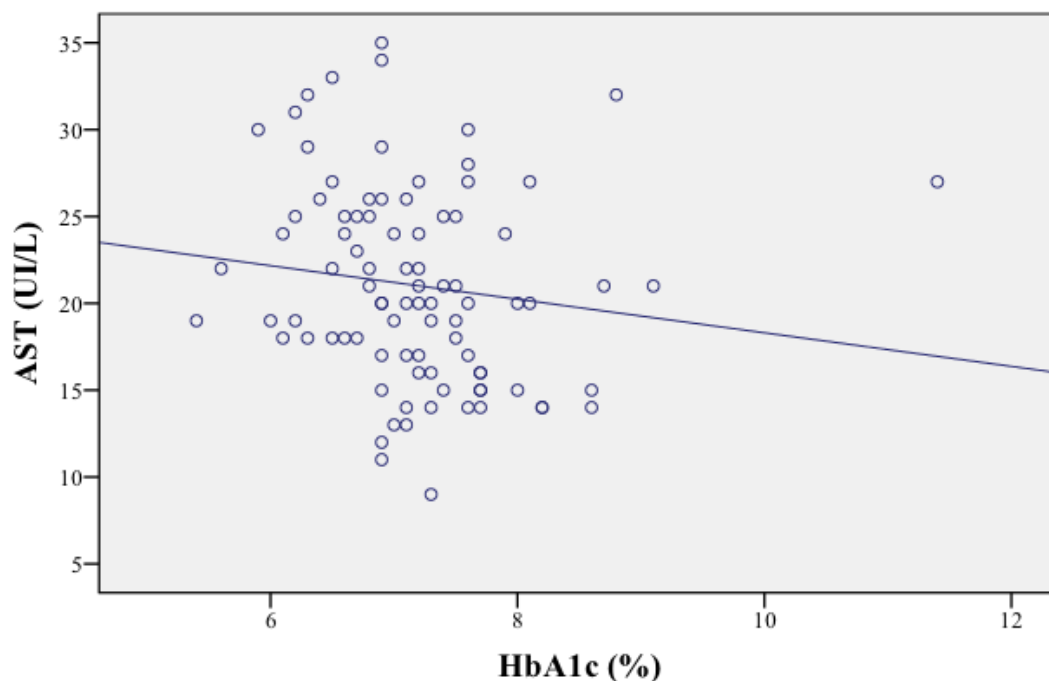


FIGURA 32: Correlación entre niveles de AST y HbA1c ($p=0,19$).

Resultados

No se demostraron otras diferencias en las variables analíticas básicas y hemograma en relación a los niveles de HbA1c.

Otros hallazgos:

Se demostró correlación negativa de forma estadísticamente significativa entre el péptido C y la HbA1c en el momento del estudio ($r=-0,287$; $p<0,01$) (figura 33), correlación que se mantuvo controlando estos resultados en función del tiempo de evolución ($r=-0,275$; $p=0,01$).

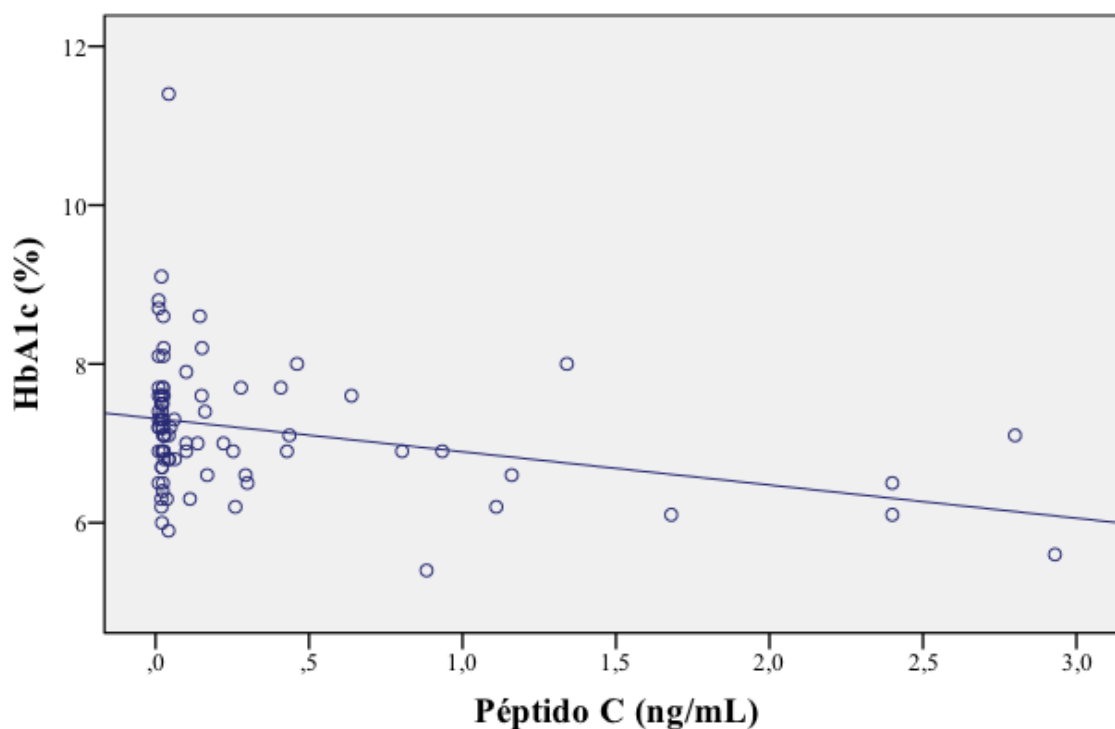


FIGURA 33: Correlación entre niveles de péptido C y HbA1c ($p<0,01$).

No se pudieron demostrar diferencias estadísticamente significativas entre la HbA1c del grupo tratado con ISCI $7,19 \pm 0,66\%$ frente al tratado con MDI

7,20 ± 0,99%, pero sí unos valores más bajos de péptido C (ISCI 0,024 (0,020-0,061) frente a MDI 0,100 (0,022-0,0351) ng/mL; p<0,01).

FACTORES INFLAMATORIOS Y CITOCINAS.

Los resultados de los parámetros pro-inflamatorios y citocinas de los participantes del estudio se muestran en la tabla 16. No se han podido demostrar diferencias estadísticamente significativas en los valores de adiponectina, leptina, IL6, TNF α y PCR us entre la población con DM1 y la población control.

	DM1	CONTROL	p
Adiponectina (mcg/mL)	14,83 (10,15 - 18,13)	12,61 (8,88 - 18,81)	0,32
Leptina (ng/mL)	7,3 (3,98 - 12,38)	7,2 (3,8 - 14,4)	0,55
IL6 (pg/mL)	2 (2 - 2)	2 (2 - 2,2)	0,21
TNF α (pg/mL)	9,65 (7,7 - 11,53)	9,9 (7,45 - 12,4)	0,97
PCR us (mg/dL)	0,04 (0,03 - 0,09)	0,06 (0,03 - 0,13)	0,33

TABLA 16: Comparación de parámetros proinflamatorios en ambas muestras.

Para evaluar de qué manera podía actuar la pubertad en los valores de adipocinas inflamatorias se realizó una comparación del grupo control con el grupo de DM1 seleccionando únicamente los pacientes prepuberales sin encontrar diferencias en los valores de adiponectina, leptina, IL6, TNF α y PCR us. Lo mismo se realizó seleccionando los pacientes puberales con idéntico resultado.

Resultados

Centrándonos en la muestra con DM1 y separando por género encontramos que en mujeres eran más altos los niveles de leptina (9,9 (5,7-17,3) frente a 4,3 (2,2-7,3) ng/mL, $p < 0,01$) y PCR us (0,05 (0,03-0,13) frente a 0,03 (0,02-0,06) mg/dL; $p < 0,01$). No se encontraron otras diferencias estratificando por género.

Separando en el momento del estudio los púberes de los prepúberes encontramos las siguientes diferencias estadísticamente significativas:

En púberes eran mayores de forma estadísticamente significativa los valores de leptina (8,05(3,9-15,8) frente a 5,4(2,4-8,6) ng/mL; $p = 0,01$), con una correlación positiva estadísticamente significativa entre leptina y Tanner en el momento del estudio ($r = 0,396$; $p < 0,01$).

En prepúberes eran mayores de forma estadísticamente significativa los valores de adiponectina (15,52(13,2-25,41) frente a 13,61(9,01-15,95) mcg/mL; $p = 0,02$) y TNF α (10(7,8-11,1) frente a 9,35(8,35-11,53) pg/mL; $p = 0,04$). Así mismo, en el estudio de correlación se encontró correlación negativa con significación estadística entre el estadio de Tanner y la adiponectina en el momento del estudio ($r = -0,248$; $p = 0,03$) y entre el Tanner y los valores de TNF α ($r = -0,265$; $p = 0,01$).

Estratificando la muestra de pacientes con DM1 en aquellos que debutaron en estadio I de Tanner frente al resto encontramos que existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de TNF α (9,8 (8,4-11,1) frente al 8,8 (6,1-11,5) pg/mL de los púberes, $p = 0,02$). No se demostraron otras diferencias en los parámetros inflamatorios en relación al momento del debut.

Analizamos si existía un mayor número de pacientes en el grupo de diabetes con niveles elevados (marcados como superiores al percentil 75 del grupo

control) sin encontrar diferencias en el porcentaje de niños con DM1 con concentraciones elevadas leptina, adiponectinas, TNF α , y PCR us respecto al grupo control.

Influencia del tiempo de evolución de la DM1 en los factores proinflamatorios:

Separando por tiempo de evolución (mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 años respectivamente) encontramos diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables entre los distintos grupos: la leptina fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de mayor evolución a partir de los dos años de evolución. En el estudio de correlación se demuestra significación estadística entre el tiempo de evolución y los niveles de leptina ($r=0,264$, $p=0,02$) significación que desaparece al controlar por la edad. Analizando estos resultados en función de la existencia de pubertad no se demuestra correlación en los niños con pubertad pero en pacientes prepuberales se demuestra significación estadística ($r=0,365$; $p=0,04$) pero ésta desaparece cuando se controlan los resultados en función de la edad.

Influencia de la HbA1c en los factores proinflamatorios:

Separando por HbA1c en el momento del estudio (mayor o menor de 6.5, 7, 7.5 u 8% respectivamente) encontramos diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables inflamatorias y citocinas entre los distintos grupos: el TNF α era mayor en el grupo de mayor HbA1c de manera estadísticamente significativa en los grupos de 7,5 y 8% (figura 34) (Anexo III).

Resultados

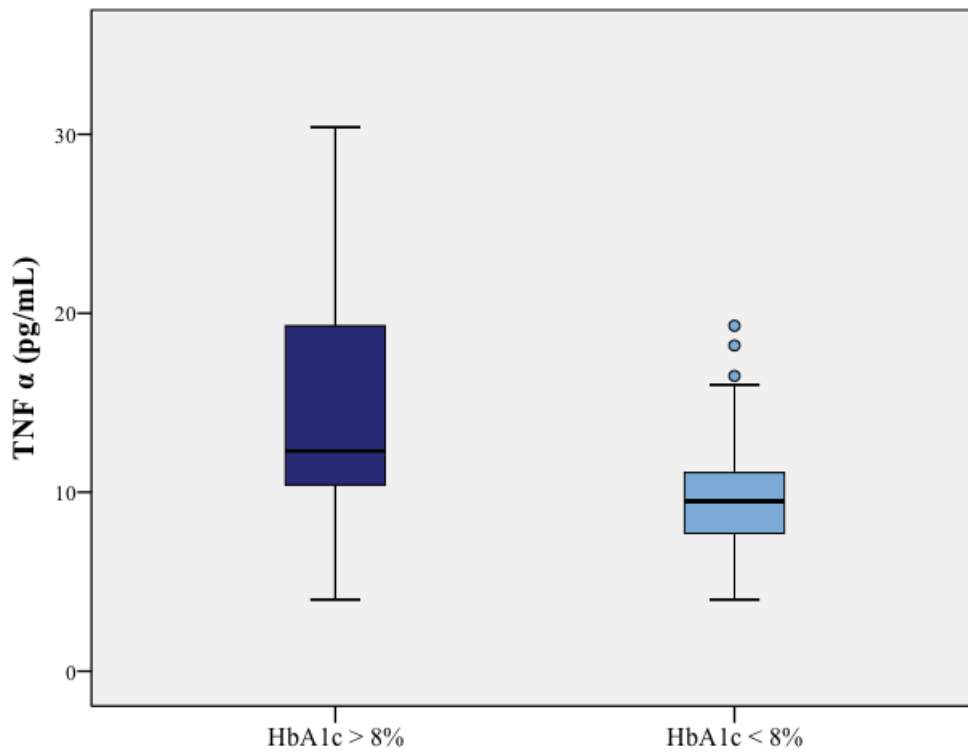


FIGURA 34: Comparación en los niveles de TNF α entre grupo con HbA1c>8% y grupo con HbA1c<8% (p=0,01).

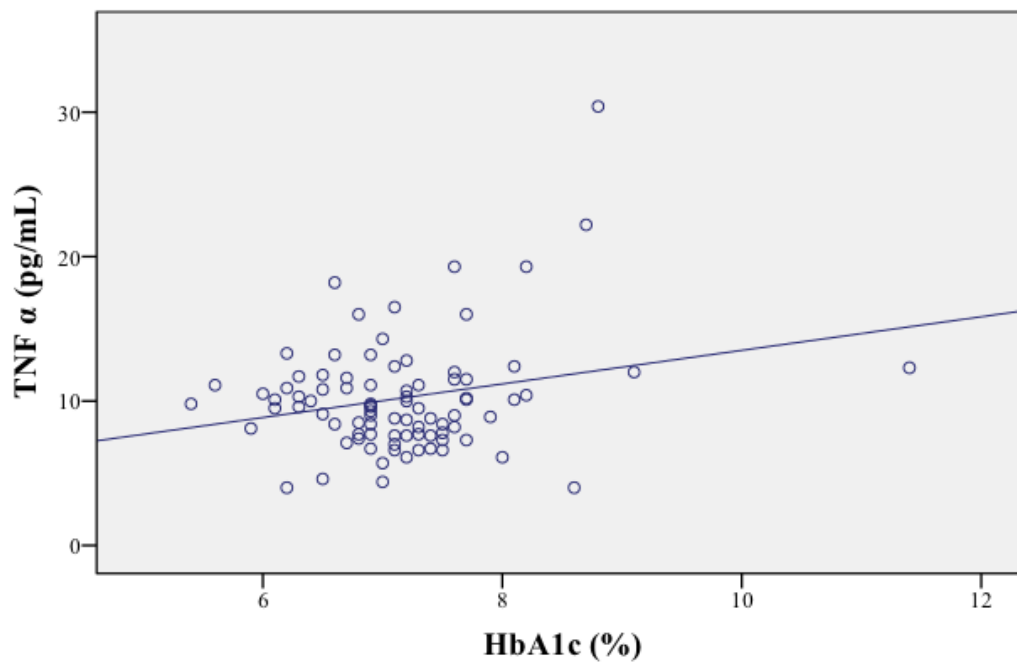


FIGURA 35: Correlación entre los niveles de TNF α y los de HbA1c (p=0,03).

Así mismo, en este sentido se demuestra de forma significativa que a medida que se incrementan los niveles de HbA1c lo hacen las concentraciones de TNF α ($r=0,24$; $p=0,03$) (figura 35), correlación que persiste significativa cuando se controlan los resultados por la edad ($r=0,23$; $p=0,03$), el Tanner ($r=0,25$; $p=0,02$) y el sexo ($r=0,24$; $p=0,03$).

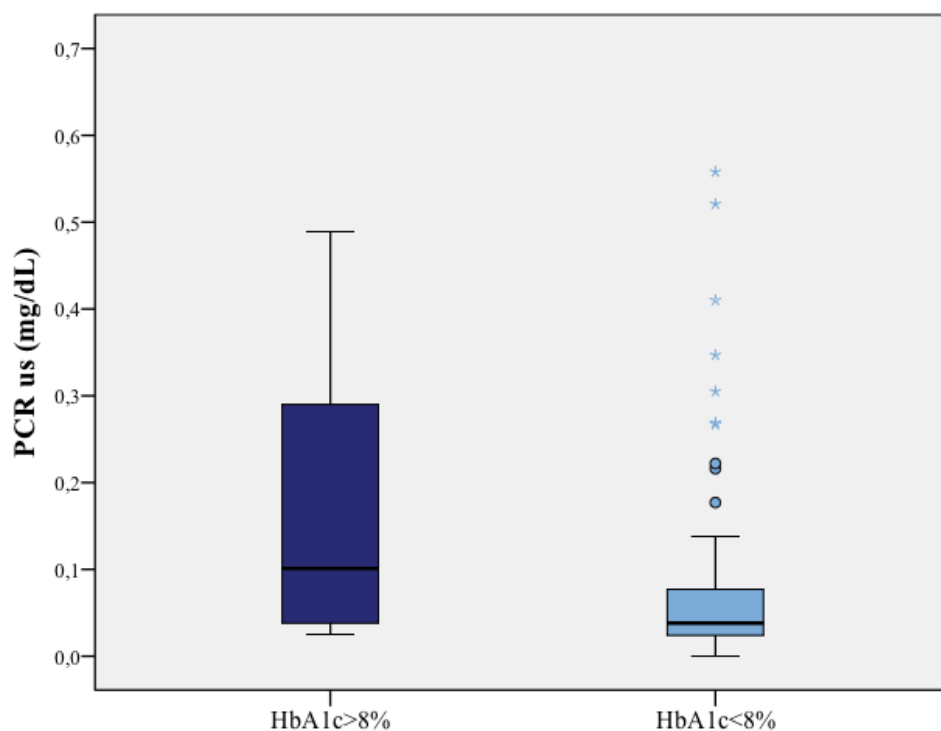


FIGURA 36: Comparación en los niveles de PCR us entre grupo con HbA1c > 8% y grupo con HbA1c < 8% ($p=0,04$).

La PCR us era mayor en el grupo de mayor HbA1c de manera estadísticamente significativa en los grupos de 7,5 y 8% (figura 36) (Anexo III).

Otros hallazgos:

En los pacientes con ISCI se demostró una diferencia estadísticamente significativa en los valores de leptina respecto a los tratados con MDI (8,6 (5-13,3) frente a 6,2 (3,15-9,95) ng/mL respectivamente, $p=0,04$) sin que se

Resultados

demostrasen diferencias en la edad ni en el porcentaje de sujetos en pubertad.

Demostramos correlación positiva entre los niveles de leptina y la dosis total de insulina ($r=0,458$; $p<0,01$) (figura 37), controlando por edad, sexo y Tanner, esta correlación se mantiene ($r=0,283$; $p=0,01$).

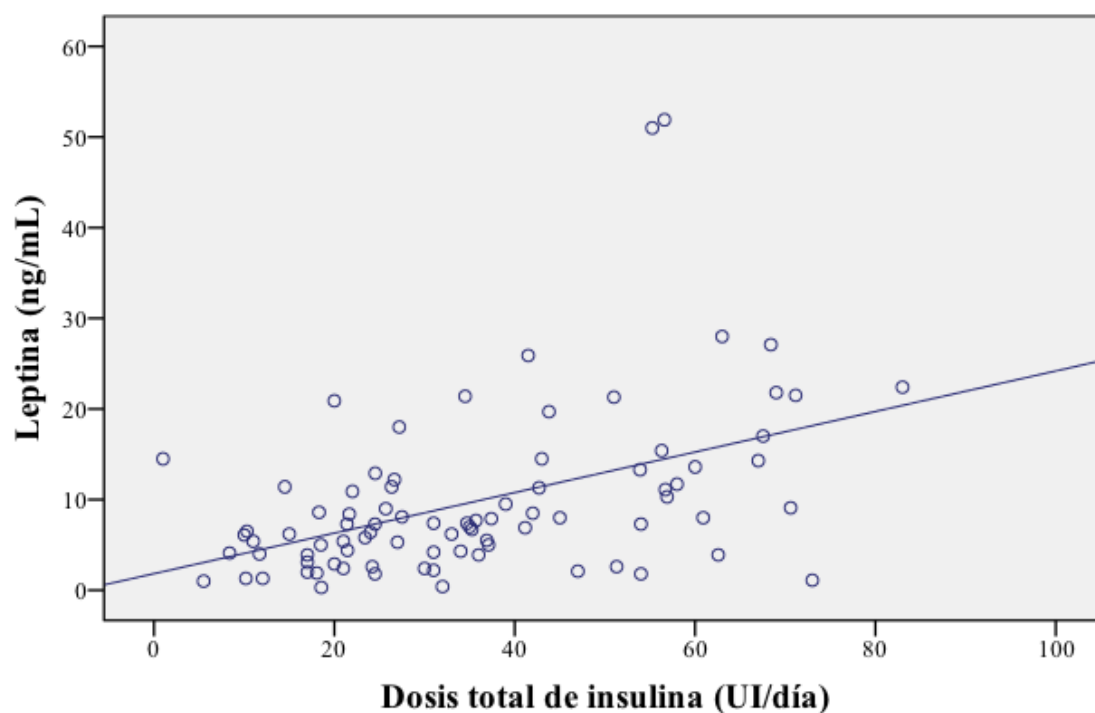


FIGURA 37: Correlación entre los niveles de leptina y la dosis total de insulina ($p<0,01$).

No podemos demostrar correlación de adiponectina con HbA1c.

COAGULACIÓN

Estudiando los parámetros implicados en la coagulación y en la fibrinólisis, no se encuentran diferencias entre los grupos del estudio, excepto en los niveles de homocisteína, en los que los DM1 tienen 7,6 (6,45 - 10,80)

mcmol/L frente a 9,88 (8,02 - 15,13) mcmol/L que tienen los niños sin diabetes ($p=0.03$) (tabla 17) (figura 38).

	DM1	CONTROL	p
TP (%)	86,37 ± 8,42	87,09 ± 10,20	0,62
TTPA (seg)	37,64 ± 4,19	36,74 ± 4,29	0,18
FBG (mg/dL)	290,24 ± 50,29	279,08 ± 47,87	0,15
F VIII C (%)	113,45 ± 28,19	119,46 ± 26,81	0,27
FVW Ag (%)	115,30 ± 39,94	114,39 ± 35,13	0,90
FVW Ac (%)	107,61 ± 33,00	114,83 ± 38,03	0,29
PAI-1 (UI)	20 (14,3 - 30,6)	20,39 (15,85 - 29,59)	0,78
AT III (%)	95,70 ± 9,81	94,65 ± 10,03	0,53
HCN (mcmol/L)	7,6 (6,45 - 10,80)	9,88 (8,02 - 15,13)	0,03
Plaquetas ($\times 10^3$ /mCL)	281,12±73,65	289,37±72,03	0,45

TABLA 17: Comparación de parámetros de coagulación y fibrinólisis en ambas muestras.

Estratificando ambas muestras (diabéticos y controles) según su estadio puberal (en pre y puberales) continúan existiendo diferencias estadísticamente significativas en los pacientes prepuberales en las cifras de HCN (6,45 (5,58-7,03) mcmol/L en diabéticos frente a 8,65 (5,65-15,70) mcmol/L en controles; $p=0,04$) sin encontrar diferencias en otros parámetros. En la etapa puberal se encuentran diferencias en las cifras de fibrinógeno ($294,81 \pm 52,95$ en diabéticos frente a $275 \pm 45,26$ mg/dL en

Resultados

controles; $p=0,04$) y buscando diferencias en el resto no se consiguen demostrar.

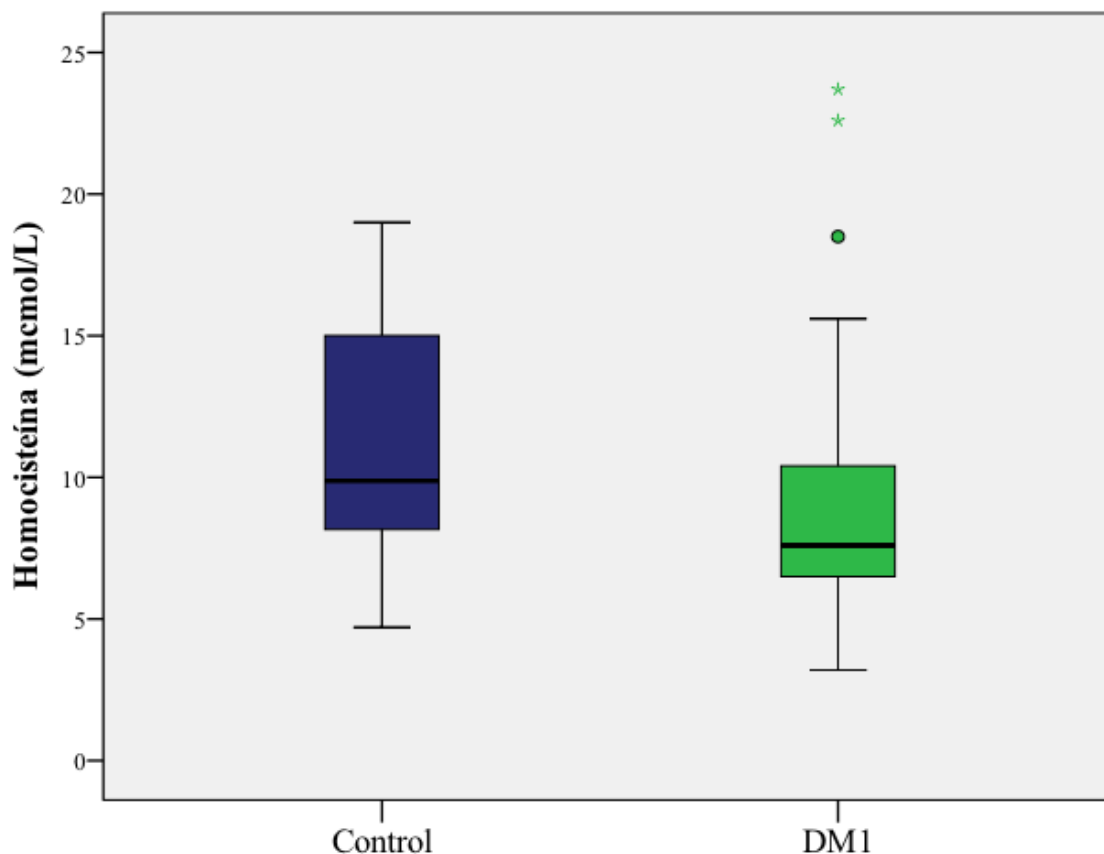


FIGURA 38: Comparación de los niveles de homocisteína entre ambas muestras ($p=0,03$).

En la población con DM1 separando por sexo se encuentran diferencias estadísticas en las concentraciones de FVW Ag ($129,92 \pm 41,21$ frente a $107,54 \pm 37,39\%$; $p=0,02$) siendo más altas en hombres que en mujeres (figura 39).. No podemos demostrar diferencias entre el FVW Ag en púberes entre niños y niñas, ni en prepúberes entre niños y niñas. Tampoco podemos demostrar diferencias en los valores de este parámetro, en niños según presencia o no de pubertad, ni tampoco en niñas. No se encuentran

diferencias entre varones y mujeres en otras variables relacionadas con la coagulación y la fibrinólisis

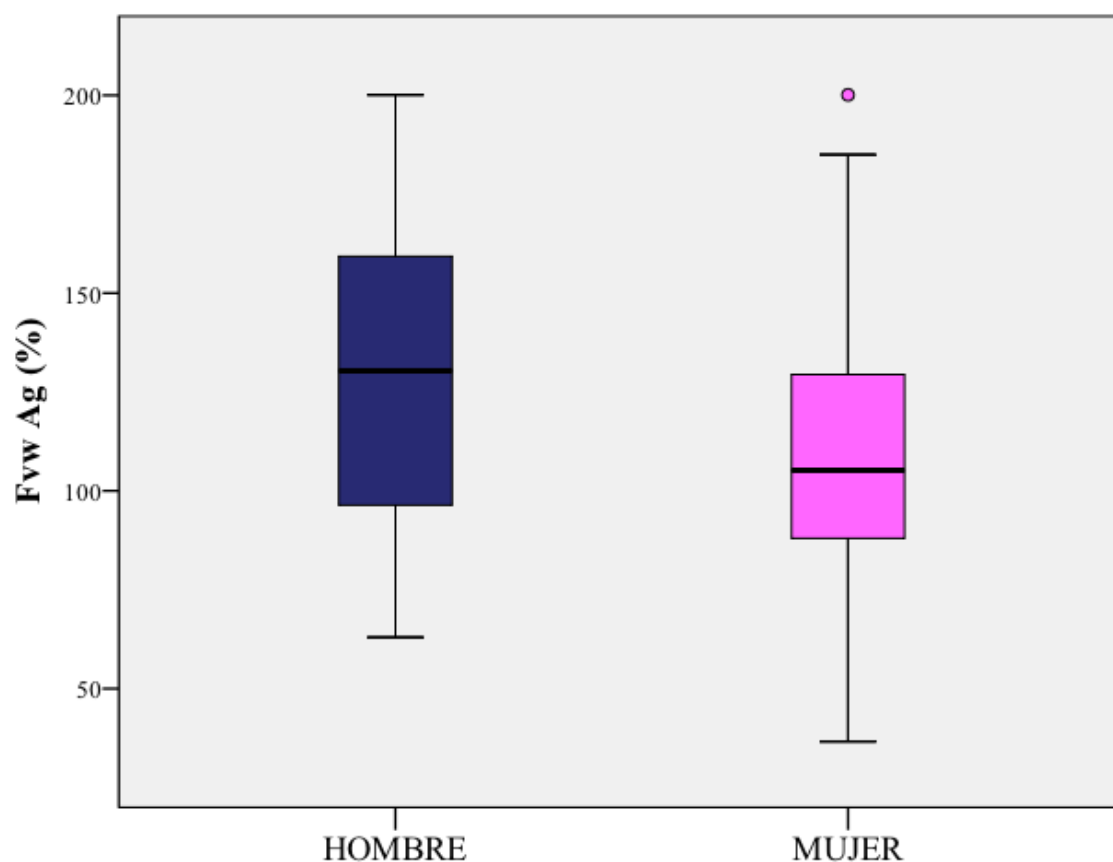


FIGURA 39: Comparación de los niveles de FVW Ag entre ambos sexos ($p=0,02$).

Si separamos entre los que debutaron púberes y los que lo hicieron en estadio prepúber no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los niveles de factores protrombóticos o fibrinolíticos.

Los sujetos en pubertad presentaba valores más altos respecto a los prepúberes de FVW Ac ($114,70 \pm 32,13$ frente a $95,71 \pm 31,48$ %; $p=0,02$) y de HCN ($9,08$ ($7,26-11,78$) frente a 6 ($5,5-7$) $\mu\text{mol/L}$; $p<0,01$).

Estudiando si existía un mayor número de pacientes en el grupo de diabetes con valores altos de los parámetros relacionados con coagulación y fibrinólisis (marcamos como límite superior el que daba el laboratorio para

Resultados

los siguientes parámetros: FVW Ag (límite superior 120%), FVW Ac (límite superior 120%), FVIII C (límite superior 120%), HCN (límite superior 15mmol/L), ATIII (límite superior 120%) y PAI-1 (límite superior 7,5 UI)), hallando sólo diferencias estadísticamente significativas en la HCN ($p=0,02$), con valores más altos en controles que en casos como sucedía al comparar las medidas de tendencia central.

Influencia de la evolución de la DM1 en los factores protrombóticos:

En las comparaciones dos a dos entre los 7 grupos establecidos según tiempo de evolución según fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años encontramos las siguientes diferencias estadísticamente significativas:

En el complejo del FVW comienzan a existir diferencias estadísticamente significativas a partir del sexto año de evolución con niveles más altos en el grupo de mayor evolución, en el FVIII C (Anexo III).

En el estudio de correlación se demostró significación estadística en la correlación entre el tiempo de evolución y el FVW Ag ($r=0,242$; $p=0,04$), correlación que desaparecía al controlar por la edad.

Se demuestran diferencias estadísticamente significativas a partir de los 7 años de evolución en los niveles de HCN con valores más altos en los de mayor evolución (Anexo III). Sin que podamos demostrar correlación entre ambos parámetros.

Influencia de los niveles de HbA1c en los factores protrombóticos:

Haciendo una comparativa dos a dos entre grupos según tuvieran una HbA1c en el momento del estudio mayor o menor de 6.5, 7, 7.5 y 8 respectivamente, encontramos diferencias estadísticamente significativas en las siguientes variables entre los distintos grupos:

El complejo del FVW era mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más alta en los subgrupos de HbA1c de 6,5 y 7% (Anexo III).

La ATIII era mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de HbA1c más alta en el subgrupo de HbA1c de 8% (figura 40), no pudiéndose demostrar diferencias estadísticamente significativas en el resto de grupos (Anexo III).

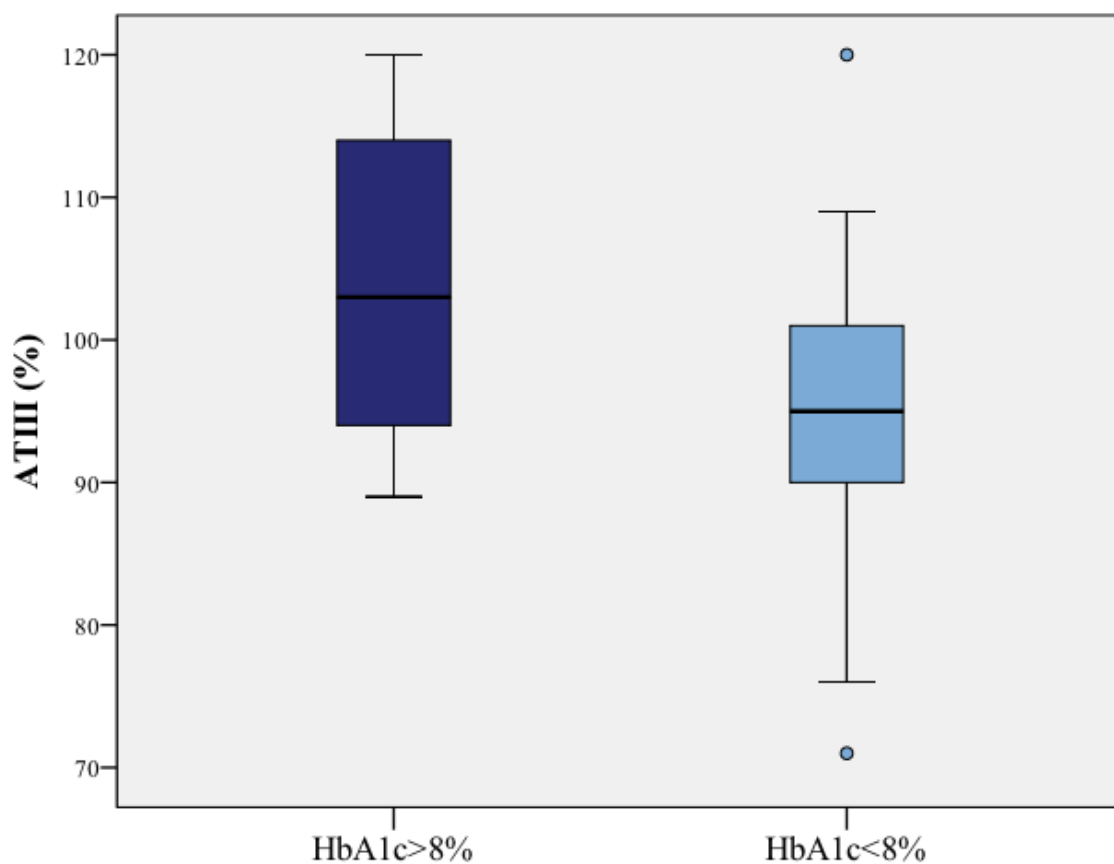


FIGURA 40: Comparación en los niveles de ATIII entre grupo con HbA1c > 8% y grupo con HbA1c < 8% ($p=0,02$).

Estudiando la correlación entre ambos parámetros (figura 41) no se llega alcanzar significación estadística ($r=0,22$; $p=0,05$).

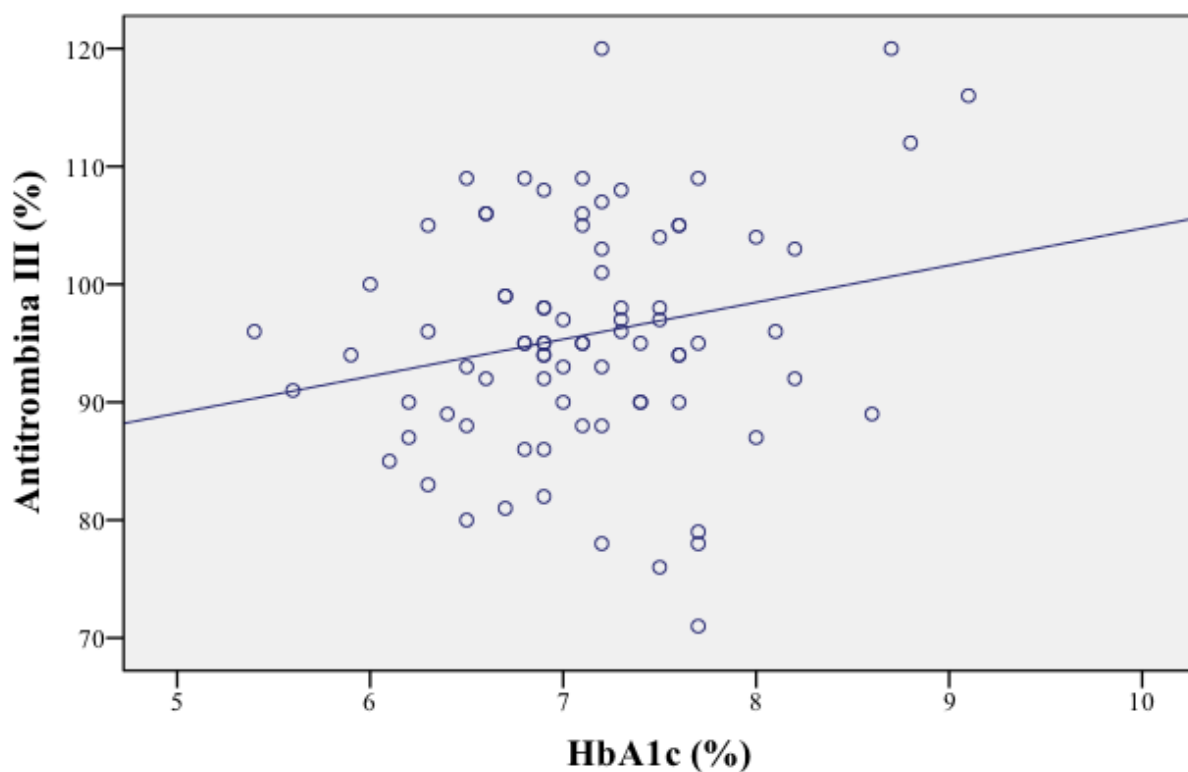


FIGURA 41: Correlación entre niveles de ATIII y HbA1c (p=0,05).

La HCN era mayor de manera estadísticamente significativa en el grupo de mayor HbA1c en el grupo de 6,5 %, en el resto no se han podido demostrar diferencias estadísticamente significativas (Anexo III).

El PAI-1 era mayor en el grupo de mayor HbA1c de manera estadísticamente significativa en los grupos de 6,5%; 7% (figura 42) y 8% (Anexo III). Además se demostró correlación positiva de forma estadísticamente significativa entre ambas variables: PAI-1 y HbA1c ($r=0,246$; $p=0,04$) en diabéticos que no se logra demostrar en controles (figura 43).

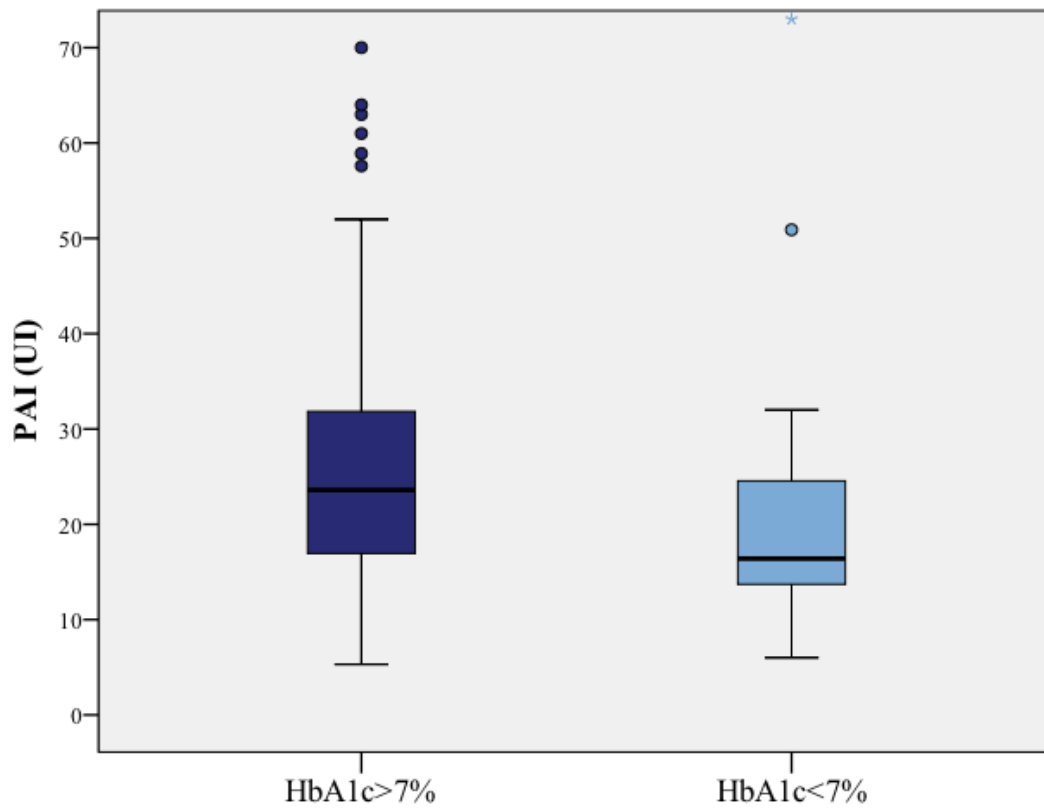


FIGURA 42: Comparación en PAI-1 entre grupo con HbA1c>7% y grupo <7% (p=0,04).

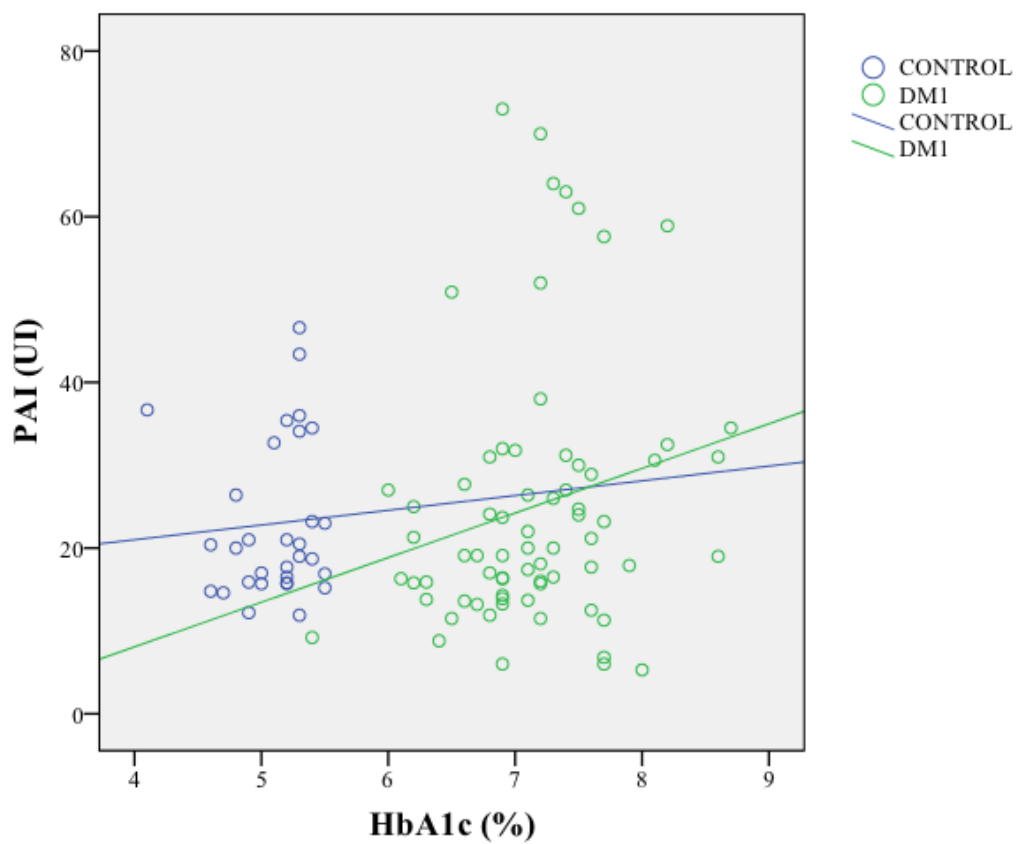


FIGURA 43: Correlación entre PAI-1 y HbA1c (diabéticos p 0,04, controles p=0,75).

Resultados

Otros hallazgos:

En los pacientes con ISCI se demostró una diferencia estadísticamente significativa en los valores de FVW Ac respecto a los tratados con MDI ($114,68 \pm 32,87$ frente a $98,74 \pm 31,87\%$ respectivamente; $p=0,04$), FVWA_g ($124,89 \pm 41,54$ frente a $104,09 \pm 34,79\%$ respectivamente; $p=0,03$) y PAI-1 ($24,1$ ($16,5-31,8$) frente a 17 ($13,05-24,5$) UI respectivamente; $p=0,03$). Encontramos correlación positiva entre los valores de PCR us y el fibrinógeno ($r=0,407$; $p<0,01$).

DISCUSIÓN



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

La muestra de los pacientes con DM1 es comparable a la del grupo control en edad, sexo, estadio puberal y antropometría. Destaca así mismo lo mucho que se aproximan ambas muestras a una población normal al ser las desviaciones estándar de las medias de peso, talla e IMC próximas a 0. Ambos hechos se mantienen estratificando ambas muestras según fueran pre o puberales, a excepción del peso en kilogramos de los niños puberales diabéticos que era mayor al de los niños puberales controles, pero esta diferencia no existe en DS ni en IMC lo que hace que las muestras sigan siendo comparables.

Es reseñable que el IMC de nuestros pacientes con DM1 en DS sea de 0,05 lo que serviría como indicador indirecto del buen control que presentan que se traduciría en un IMC en la media de la normalidad. Comparando los datos antropométricos de nuestra población de niños con DM1 con otras publicadas en España podemos decir que en cuanto a las DS de talla muestran similitud con datos publicados por Roldán Martín MB et al en 1999 donde presentan una DS de talla de $-0,18 \pm 0,77$, mientras que en lo referente a las DS de IMC son más favorables nuestros datos puesto que en dicho artículo muestran un resultado de $0,99 \pm 0,79^{277}$ cercano al sobrepeso.

En lo referente a la evolución de la antropometría de nuestros niños diabéticos con el paso del tiempo, hallamos una caída de talla de $-0,17 \pm 0,71$ DS y una ganancia de IMC en DS de $0,59 \pm 0,82$ que ya otros autores españoles habían estudiado obteniendo datos similares a los nuestros¹⁶⁷. En el incremento de más de media desviación estándar de IMC, debe ser tenido en cuenta que en el debut, es frecuente que exista una pérdida de peso secundario a la utilización de grasas como fuente metabólica y que se recupera en los primeros meses tras el debut. Mientras que en nuestros datos partimos de un valor medio de IMC inferior a la media, que tras la

recuperación alcanza valores cercanos a 0 DS, en los datos publicados por Galera et al¹⁶⁷, inicialmente parten de una desviación estándar más elevada que la nuestra y tras el incremento con el tratamiento se acerca, sobre todo en varones, al rango del sobrepeso.

Destacamos el valor de la HbA1c de nuestros pacientes en el momento del estudio $7,19 \pm 0,83\%$, que está próximo al objetivo terapéutico establecido por la ADA y es menor al publicado por otros estudios relacionados con el tema objeto de nuestro trabajo como veremos más adelante. Así, en el estudio publicado por Romano et al en 2001 en relación a las alteraciones del endotelio en niños y adolescentes con DM1, muestran unas medias de HbA1c de $8,9 \pm 2,5\%$ en los de menos de 1 año de evolución de la enfermedad y de $7,8 \pm 1,5\%$ en los de más de 1 año de evolución²⁶⁵. Así mismo, el publicado por Snell-Bergeon et al en relación a parámetros inflamatorios en jóvenes con DM1, refiere una HbA1c de $8,4 \pm 1,9\%$ ²³³. Por último, el publicado por el estudio prospectivo de complicaciones derivado del EURODIAB, presenta una HbA1c de $9 \pm 1,6\%$ en aquellos individuos con complicaciones vasculares y de $7,7 \pm 1,3\%$ en aquellos sin complicaciones asociadas²⁷³.

El alto impacto de las nuevas tecnologías en el tratamiento de los pacientes pediátricos con DM1 de nuestro Hospital queda patente por el porcentaje de pacientes con ISCI (51,1% usuarios de sistemas de infusión continua de insulina) por encima de los datos obtenidos en el T1D Exchange Clinic Registry que recoge pacientes de 67 centros de endocrinología de Estados Unidos y da porcentajes de uso de bombas de insulina de 31% para menores de 6 años y de 46% para niños entre 6 y 13 años²⁷⁸, pero inferior al nivel de uso aportado en menores de 6 años en el Prospective Diabetes Follow-up Registry (DPV) realizado por Austria y Alemania, que cifra el uso de ISCI

en menores de 6 años en un 74%²⁷⁹. En este aspecto querríamos destacar el hecho que los pacientes tratados con ISCI tienen unos niveles más bajos de péptido C que los tratados con MDI quizá en relación con la tendencia a relegar este tratamiento a fases más posteriores de la evolución de la diabetes, de hecho, la media del tiempo de evolución en ambos grupos es dos años mayor en el grupo tratado con ISCI respecto al tratado con MDI. La diferencia entre HbA1c en ambos grupos, los tratados con ISCI y los tratados con MDI, no es significativa, lo que quizá pueda explicarse por el hecho de tener más años de evolución y menor péptido C los tratados con ISCI, puesto que en publicaciones previas como la de Doyle et al¹³³ y en un estudio realizado en 2013 por nuestro grupo²⁸⁰ se demuestra mejoría de la HbA1c al pasar de la modalidad de múltiples dosis a la de infusión continua. Nuestros datos del estudio que realizamos en 2013, muestra una HbA1c con MDI de 7,52%, al año de iniciada la terapia con ISCI de 7,28% y a los 3 años de 7,43% mostrando mayores diferencias cuanto menor es la HbA1c al diagnóstico de Diabetes Mellitus²⁸⁰.

En cuanto a las características de la insulinoterapia de nuestra muestra de diabéticos, el aumento de las necesidades por kilogramo de peso y día con el tiempo parece depender más del estado puberal que de la edad. Así mismo, en cuanto a la ratio basal/bolo en prepúberes, las necesidades de insulina en forma de bolo son más altas que las de los púberes. Esta misma ratio a favor de la insulina en forma de bolo, se demuestra en los pacientes tratados con ISCI respecto a los tratados con MDI. Estos hallazgos son acordes a los aportados por otros autores en este sentido, como es el caso del trabajo de Ayse et al²⁸¹.

La asociación encontrada entre TAS y HbA1c, así como la de HbA1c y necesidades de insulina por kg de peso y día, puede traducir una insulinoresistencia (con necesidades más altas de insulina) asociada en los

Discusión

de peor control metabólico (HbA1c más altas) que a su vez implicaría niveles de TAS más altas como se describe en DM2²⁸² lo que estaría en relación con la teoría de Leslie sobre la heterogeneidad dentro de la diabetes con el solapamiento entre sus tipos²⁸³.

La media de edad de presentación fue de $6,58 \pm 3,61$ años. No demostramos la distribución bimodal que Felner describió en los grupos de edad de 4-6 años y 10-14 años, siendo los dos picos de incidencia de nuestra muestra los grupos de 2-3 años y 6-9 años con una presentación más precoz a la descrita por Felner et al¹². Dado que en nuestra muestra, sólo un 4,2% no presentan HLA de riesgo, podría estar acorde con los datos obtenidos por Felner, en el sentido que, al tener haplotipos de riesgo en los genes del complejo mayor de histocompatibilidad se predispone a la aparición más precoz de la enfermedad.

En nuestra muestra de niños con DM1 un 95,8% tenían HLA de riesgo en relación a lo descrito en la literatura (que habla de más del 90% de pacientes con DM1) y un 36,1% tenían ambos haplotipos lo que marca mayor susceptibilidad y está acorde con la incidencia descrita para el estado de heterocigoto por otros autores (cerca del 30%)⁴⁸.

Ninguno de nuestros niños tiene autoinmunidad negativa concomitante con ausencia de marcadores de riesgo genético (el 4,2% no tenían HLA de riesgo pero sí algún autoanticuerpo en relación con DM1 y sólo un 3,75% no tenían anticuerpos positivos al diagnóstico pero tenían HLA de riesgo para diabetes) por lo que el diagnóstico de DM1 se ve reforzado por estos datos analíticos.

Existe un predominio de mujeres (64,04%) frente a hombres, y este predominio es constante en todas las edades en nuestra muestra. Este

predominio del género femenino no está descrito en la literatura, y en algunos estudios incluso se describe una ratio masculino:femenino para niños con debut temprano de DM1 de 1,2 a 1,5:1²⁸⁴, sin que encontremos explicación a este hecho, como tampoco al de que en las mujeres de nuestra muestra el debut sea más precoz, con una diferencia de casi dos años.

Un 42,04% de la muestra debutaban con cetoacidosis y el 10,23% con pH inferior a 7,1, comparando nuestros resultados con los de Klingensmith et al, observamos un porcentaje más alto de debut con cetoacidosis en nuestra muestra (42,05 frente a 34%) quizá explicable por la diferencia en la edad media de presentación (6,58 años en nuestro estudio frente a 9,2 años en el de Klingensmith)¹⁰⁹. Así mismo, se objetivaba una correlación positiva entre la edad de presentación y el pH, lo que justifica también que el porcentaje de debut con CAD sea mayor al publicado en la literatura en torno al 30%, por la edad media al debut de nuestros pacientes.

Sólo una HbA1c al debut fue inferior a 6,5% como se establece para emplear este dato como criterio diagnóstico, tratándose de una paciente en fase preclínica con una HbA1c de 4,8% (hermana de un paciente diabético) que inició tratamiento en 2012 tras confirmar diagnóstico con sobrecarga oral de glucosa y aún sigue con bajas necesidades de insulina en el momento actual según recomendaba el estudio DAISY¹¹⁰.

La correlación positiva de los niveles de HbA1c con la edad al debut junto con los niveles de pH más bajos y la mayor probabilidad de cetoacidosis en niños más pequeños puede justificarse por entrar en descompensación metabólica más precozmente los de edades más tempranas. Este grupo por ello, presenta un ambiente hiperglucémico menos mantenido que el de niños mayores, por lo que la hemoglobina podría por ello tener menos tiempo para sufrir una glicosilación. Esto mismo (mayor frecuencia de cetoacidosis en

los de menor edad y mayor HbA1c al debut en los de mayor edad) ya fue descrito por el Grupo de diabetes infantil de Galicia²⁸⁵.

En cuanto a los datos analíticos básicos, destacamos un perfil lipídico más favorable en población diabética que quizá sea explicable por una alimentación más equilibrada necesaria para un correcto control de la diabetes. En este sentido, recientemente se ha publicado por parte del grupo del Hospital Universitario Ramón y Cajal un estudio longitudinal ambispectivo en 75 niños y adolescentes españoles con DM1 diagnosticados en los años 1996-2003 y seguidos durante 9 años, analizando los factores de riesgo cardiovascular y su evolución al segundo, sexto y noveno años tras el diagnóstico. En él, encuentran un aumento significativo en la prevalencia de un índice TG/HDL-c mayor o igual a 2 entre el sexto y el noveno años de evolución de la enfermedad. Así mismo, demuestran que una HbA1c mayor o igual a 7,5% en el segundo y el sexto años se asociaba de forma significativa a una disminución en el HDL-c z-score, y una HbA1c menor de 7,5% durante ese mismo periodo se asoció significativamente a un aumento del HDL-c z-score. Por ello concluyen que el peor control metabólico de la DM1 en los primeros años de evolución se asocia a una disminución del HDL-c z-score y que el cociente TG/HDL-c podría ser un marcador precoz de riesgo cardiovascular. En este sentido nuestra muestra de pacientes diabéticos estaría dentro del grupo con un perfil de bajo riesgo cardiovascular por ser su HbA1c media de 7,19% y su tiempo medio de evolución de 4,71 años²⁸⁶. En nuestro trabajo no hemos encontrado diferencias significativas en el perfil lipídico en función de la HbA1c pero sí en función del tiempo de evolución.

Los niveles de ácido úrico inferiores en los pacientes con DM1 respecto a los controles podrían explicarse por la existencia de glucosuria de los DM1 que secundariamente, por un fenómeno de ósmosis, arrastra ácido úrico

provocando concentraciones más bajas en sangre como hipotetiza Bjornstad en su estudio en el que ya asoció bajas concentraciones de uricemia con menor sensibilidad a la insulina²⁸⁷. En nuestro estudio no hemos determinado ácido úrico en orina pero atribuimos estas diferencias a la existencia de glucosuria. Ahora bien, tampoco hemos demostrado diferencias de urato en función de un mayor nivel de HbA1c (que supondría una mayor existencia de glucosuria) pero los datos publicados concordantes con los nuestros hace que nos inclinemos hacia esta teoría para explicar los menores niveles de uricemia en diabéticos que en controles.

La presencia de AST en el tejido pancreático podría explicar las diferencias de los DM1 respecto al grupo control existentes en esta enzima. Aunque no hemos encontrado bibliografía sobre este hecho podemos plantear la hipótesis de que una vez que la diabetes ha debutado (momento en que ya la masa pancreática es muy baja), la cantidad de AST que pertenece al páncreas desaparece en los niños diabéticos permaneciendo inalterada en los controles. En la correlación de niveles de AST con edad en casos y controles vemos que la pendiente en ambos de descenso de los niveles de AST en relación con la edad es similar lo cual hace que teorizamos que debe haber algo que justifique el que los niveles de AST sean menores en diabéticos que en controles independientemente del tiempo de evolución de aquellos, quizá en relación con un menor tamaño del páncreas y por tanto una menor celularidad del mismo como parte de la etiopatogenia del desarrollo de la enfermedad como postulan entre otros Campbell-Thomson M et al²⁵. El hecho de que los valores de ALT, enzima exclusivamente hepática, no muestren este mismo comportamiento, refuerza esta idea.

El hecho de que la HbA1c fuera más alta en el grupo de mayor evolución en el primer año, no encontrando después significación estadística en esta diferencia al separar por tiempo de evolución podría explicarse por la

pérdida de reserva pancreática a partir de esta fecha. Así mismo, demostramos que el deterioro de la función pancreática es progresivo y evolutivo en el tiempo, ya que el péptido C fue más alto en el grupo de menor evolución respecto al de mayor en todos los subgrupos analizados y se demostró correlación negativa entre el tiempo de evolución y los niveles de péptido C. La caída más drástica se produce durante el primer año. En un estudio publicado por Martín-Frías M et al en 2014 no encontraron correlación entre la HbA1c y el tiempo de evolución, por lo que esto apoya el hecho de que quizá este peor nivel de HbA1c en los grupos de mayor evolución tengan más que ver con un menor nivel de péptido C que con los años de evolución en sí²⁸⁸, puesto que además mostramos correlación negativa entre niveles de péptido C y HbA1c. Por lo que, al igual que proponen Steffes et al¹⁴¹ entre otros, pensamos que preservar la secreción endógena de insulina debería fijarse como objetivo terapéutico ya que aquellos pacientes con un mayor nivel de péptido C, marcador de una mayor producción de insulina, presentan un mejor control metabólico.

En la adiponectina, proteína asociada a una disminución del riesgo cardiovascular, está descrito en niños obesos que las diferencias respecto a los controles empiezan a aparecer a partir de la pubertad pero no encontramos diferencias entre casos y controles ni siquiera separando ambas muestras según la existencia de pubertad. Tampoco encontramos diferencias en esta citocina separando la muestra de diabéticos por género, pero separándola según presencia o no de signos puberales, sí encontramos niveles más altos de adiponectina en prepúberes que en púberes con DM1 como ocurre en controles. Así mismo, encontramos correlación negativa entre el Tanner y la adiponectina en diabéticos. Tampoco encontramos diferencias en este parámetro según tiempo de evolución o control metabólico de la DM1. Podemos decir pues, que el comportamiento de la

adiponectina en diabéticos es igual a la que se observa en población no diabética. Celi et al²⁵⁰ encuentran correlación entre los niveles de adiponectina y la HbA1c, y encuentran valores más altos en prepuberales diabéticos comparados con los prepuberales controles, hecho que explican como un ineficiente tratamiento insulínico en su población dado que la insulina parece inhibir la producción de adiponectina. Este hecho quizá explique el por qué nosotros no encontramos diferencias puesto que la insulinización de nuestros pacientes parece ser adecuada, hecho que demuestra el que la media de HbA1c de su estudio sea de 8,2% frente al 7,19% de nuestro estudio.

En lo que respecta a la leptina tampoco encontramos diferencias en los niveles de casos y controles ni siquiera separando por presencia de pubertad, si bien Celi et al²⁵⁰ demuestran un estado de hiperleptinemia en púberes diabéticos respecto a púberes sanos que explican por un estado de hiperinsulinemia crónica por el tratamiento que se acentúa con la pubertad. Encontramos niveles más altos de leptina en mujeres que en hombres como ya se reporta en la literatura²⁴⁴. También hallamos niveles más altos en púberes diabéticos frente a prepúberes diabéticos con correlación positiva entre leptina y Tanner²⁴⁴. No encontramos correlación de sus niveles con el tiempo de evolución de la DM1 ni con el control metabólico de la misma. Con todo esto, parece que la leptina de nuestro grupo de diabéticos tiene un comportamiento que no difiere de lo que ocurre en niños sanos. En los pacientes con ISCI demostramos valores más altos de leptina comparados con los tratados con MDI sin que dependiera de la edad ni de la presencia o no de pubertad. El no poder encontrar explicación a este hecho ni tampoco referencias en la bibliografía nos lleva a pensar que quizá la razón sea estadística. Demostramos correlación positiva entre los niveles de leptina y la dosis total de insulina aun controlando por edad, sexo y Tanner como

Discusión

sucede en el estudio de Celi²⁵⁰. Snell-Bergeon et al²³³ demuestran niveles más bajos de leptina en los de peor control metabólico, quizá explicable por una baja insulinización de su muestra dado que la correlación positiva entre dosis total de insulina y leptina que encontramos es ratificada por otros estudios y se mantiene aun controlando por otros factores de confusión.

Si analizamos los resultados obtenidos en IL6 no encontramos diferencias entre la población con DM1 y la población control. Tampoco entre hombres y mujeres con DM1, ni entre púberes y prepúberes diabéticos. No hallamos diferencias tampoco según tiempo de evolución ni control metabólico. Esto puede deberse a las limitaciones en el método de medición de esta citocina que tiene poca sensibilidad y no mide valores por debajo de 2 pg/mL, pero ni siquiera entre los valores más altos determinados de IL6 encontramos diferencias entre casos y controles. Snell-Bergeon et al²³³ demuestran valores de IL6 más altos en diabéticos comparados con los sanos, no encontrando diferencias según tiempo de evolución de la diabetes ni control metabólico. Parece que su elevación se relaciona con estados de hiperglucemia en el momento agudo persistiendo hasta dos horas después de corregida ésta²³⁴. En el estudio de Snell-Bergeon no se da el dato de la glucemia concomitante con la medición de IL6, en nuestro caso ésta era de 144 (113-205,5) mg/dL, por lo que, si como dice Rosa et al, la elevación de la IL6 se asocia a estados agudos de hiperglucemia, es por eso que en nuestra muestra no hemos podido encontrar significación en lo referente a esta interleucina unido al hecho de las limitaciones de la técnica de medida.

En los valores de TNF α no encontramos diferencias entre casos y controles, tampoco hallamos diferencias entre géneros, pero sí encontramos valores más altos en prepúberes diabéticos que en púberes con DM1, con correlación negativa entre estadio de Tanner y valores de TNF α , así como también valores más altos en los que debutaron prepúberes que en los que eran

púberes en el momento del debut. Esto último quizá pueda explicarse porque aquellos que debutaron prepuberales tienen más probabilidad de seguir sin signos de pubertad en el momento del estudio y como ya hemos referido, en prepúberes diabéticos encontramos valores más altos que en los pacientes puberales. No hallamos diferencias en TNF α según tiempo de evolución pero sí según control metabólico con valores más altos de TNF α en el grupo de HbA1c mayor de 7,5% comparándolo con el de menor de 7,5% y en el grupo de HbA1c mayor de 8% comparándolo con el de menor de 8%. Así mismo, hallamos correlación positiva entre HbA1c y TNF α . Estos hallazgos difieren de los encontrados por Romano et al²⁶⁵ que encontraban diferencias en los valores de esta proteína según tiempo de evolución, pero como Celi²⁵⁰ no encontramos diferencias entre niños con diabetes y niños sanos en los valores de TNF α .

En cuanto a los valores de PCR us no demostramos diferencias entre casos y controles. Encontramos valores más altos en mujeres que en hombres. En el trabajo presentado por el grupo del estudio prospectivo de complicaciones del EURODIAB²⁷³, se demuestra asociación entre el sexo femenino y marcadores inflamatorios más altos, como sucede en nuestro estudio. No encontramos diferencias en cuanto a estadio puberal ni tiempo de evolución de la DM1, pero sí valores más altos de PCR us en el grupo de HbA1c mayor de 7,5% respecto al grupo de menos de 7,5% de HbA1c y en el grupo de más de 8% de HbA1c respecto al grupo de más de 8% de glicosilada, también Snell-Bergeon²³³ encuentra valores más altos de PCR us en los diabéticos con HbA1c superiores a 7,2%. Según Romano et al²⁶⁵, existen niveles incrementados de PCR us en los diabéticos de menos de un año de evolución comparados con los de más de un año y también con los sanos.

El hecho de no haber podido demostrar diferencias en los valores de adiponectina, leptina, IL6, TNF α y PCR us entre la población con DM1 y la

población control, quizá se justifique por el buen control de la población diabética estudiada (hemoglobina glicosilada de $7,19 \pm 0,83\%$) y por el corto tiempo de evolución de la misma ($4,71 \pm 3,38$ años).

No encontramos diferencias entre los valores en diabéticos y en controles de los parámetros de coagulación estudiados salvo en la HCN cuyos niveles son más altos en población control, hecho que ya había sido descrito en la literatura^{289,290}; estos estudios demuestran una alteración en el metabolismo de la HCN que modificaría a su vez los patrones de metilación del DNA. Es de gran relevancia dilucidar si esta alteración en la regulación epigenética se da a nivel de genes específicos que podrían estar involucrados en el desarrollo de la DM1, y si estos cambios epigenéticos se pueden demostrar incluso antes del inicio de la enfermedad. Otros estudios en cambio no demuestran esta diferencia entre diabéticos y controles²¹⁷, incluso en algunos, demuestran niveles más altos de HCN en diabéticos en relación con un peor control y con mayor presencia de complicaciones^{291,292}. Esta diferencia en los niveles de HCN se mantiene estratificando ambas muestras por estadio puberal, es decir es más alta de diabéticos prepúberes respecto a controles sin signos de pubertad y más alta en diabéticos púberes frente a niños sanos con pubertad. También, en lo que se refiere a la homocisteína, encontramos correlación entre sus niveles y el Tanner, además de demostrar niveles más altos en púberes que en prepúberes, ya demostrado en otros trabajos²¹⁷. Separando por tiempo de evolución, encontramos niveles más altos de homocisteína en el grupo de más de 7 años de evolución respecto al de menos de 7 años, lo cual puede estar influido porque en estos grupos de mayor evolución haya más pacientes púberes. En cuanto a la influencia de los valores de HbA1c sobre la homocisteína sólo encontramos niveles más altos en el grupo de más de 6,5% respecto al de menos pero después esta diferencia no se mantiene, por lo que puede venir influenciada por el azar.

En cuanto a los niveles de ATIII, la DM1 y el tiempo de evolución de la misma no parecen jugar un papel importante, al igual que la pubertad y el sexo que tampoco parecen influir de forma significativa. Dado el mejor control que tienen nuestros pacientes respecto a las publicaciones sobre el tema, evaluamos si, dentro de nuestra muestra, los niños con mayor HbA1c presentaban unas mayores concentraciones de ATIII, observando que, cuando marcábamos el límite de 8% estas diferencias sí aparecían. Parece importante por tanto destacar, que la DM1 no es la que produce alteración sino la diabetes mal controlada. La correlación no es significativa pero el valor de la p y la gráfica parece indicar que, aumentando la muestra quizá se pudiera demostrar una correlación positiva entre HbA1c y ATIII. Ceriello et al²¹⁵ publicaron una disminución en la actividad biológica a pesar de ser normales los niveles de ATIII en los sujetos con peor control metabólico. Patrassi et al²¹⁶ no pudieron demostrar diferencias entre actividad y concentración de ATIII, siguen existiendo pues controversias en torno a este parámetro.

Si estudiamos el complejo del FVW, tampoco encontramos diferencias entre casos y controles ni siquiera estratificando según pubertad. Sí encontramos valores más altos en hombres que en mujeres con DM1 en las concentraciones de FVW Ag, lo que podría indicar un deterioro más precoz del endotelio en aquellos quizá por el efecto protector que ejercen los estrógenos en el aparato cardiovascular. No logramos demostrar esta diferencia al estratificar según presencia o ausencia de pubertad, lo que quizá conseguiríamos aumentando el tamaño de la muestra. Parece que en mujeres el factor inflamatorio puede ser más importante que el protrombótico al revés que sucede en varones como sugiere el estudio del grupo EURODIAB que postula que el sexo femenino se asocia a marcadores inflamatorios más

altos²⁷³. El FVW Ac también mostraba niveles mayores en púberes diabéticos que en prepúberes. Estudiando por tiempo de evolución demostramos niveles más altos de FVIIIc en el grupo de más de 6 años de evolución y en el de más de 7 años respecto a los de menos de 6 y menos de 7 respectivamente. Romano et al²⁶⁵ demuestran niveles más altos de FVW en diabéticos de menos de un año de evolución respecto a los controles y a los diabéticos de más de un año de evolución, quizá la diferencia resida en el modo en que debutaron ambas poblaciones, cuyos datos no son aportados en el estudio. También todos los integrantes estudiados del complejo von Willebrand muestran valores más altos en los grupos de más HbA1c de 6,5 y 7%. Parece que la alteración del endotelio surge con un corte de hemoglobina glicosilada inferior al que predispone a la aparición del componente inflamatorio, que aparece estratificando con glicosiladas mayores. En los tratados con ISCI también existen concentraciones más altas de FVW Ag y FVW Ac comparados con los tratados con MDI. Al ser ambos grupos comparables en sus características exceptuando los años de evolución, hace pensar que no sólo la edad puede influir en los valores mayores del complejo von Willebrand con el tiempo.

En los valores de fibrinógeno no podemos demostrar diferencias entre casos y controles, pero si estratificamos según presencia o no de pubertad encontramos que los púberes diabéticos tienen niveles más altos de fibrinógeno que los púberes controles, no hemos encontrado nada en lo publicado en relación con este hecho, por lo que quizá se explique simplemente por azar. Snell-Bergeon et al²³³ encuentran niveles más altos de fibrinógeno en diabéticos que en controles quizá en relación con la diferencia de HbA1c entre la muestra de su estudio y la nuestra. Sí que demostramos como ellos correlación entre PCR us y fibrinógeno. Como en

su estudio, tampoco encontramos diferencias en los niveles de este parámetro según el tiempo de evolución.

En cuanto al PAI, no hallamos diferencias entre diabéticos y población control ni estratificando por Tanner. Tampoco entre niños y niñas, ni según tiempo de evolución, pero en relación con el control metabólico demostramos correlación positiva entre HbA1c y PAI como sucede en el estudio de Adly et al²²⁹. Además demostramos niveles más altos en los grupos con más de 6,5%, 7% y 8% de HbA1c. En la gráfica de correlación, el PAI se haría mayor en diabéticos que en controles con glicosiladas a partir de 7,5%. Por lo que parece que el control metabólico juega un papel importante en los valores del PAI.

Parece pues, que las diferencias que demostramos en nuestro estudio no se basan en la presencia o no de diabetes, sino en la presencia o no de un buen control metabólico, definido por el nivel de HbA1c, puesto que estableciendo cortes según sus niveles, aparecen diferencias tanto en parámetros inflamatorios como en parámetros protrombóticos, siempre a favor del grupo de glicosilada menor. Esto apoya el hecho de seguir usando la HbA1c como parámetro de control metabólico.

CONCLUSIONES



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

1. El control metabólico de nuestra muestra es bueno lo que se demuestra por unos niveles de HbA1c inferiores a los publicados en la bibliografía.
2. El momento del debut de la DM1 en nuestra muestra tiene una presentación bimodal pero a unas edades más tempranas a las descritas clásicamente.
3. Las características antropométricas de nuestra muestra de diabéticos se acerca a la media de una población normal y con la evolución, existe una pérdida de talla y una ganancia de peso e IMC respecto al momento del debut.
4. El péptido C disminuye con el tiempo, principalmente durante el primer año y presenta correlación negativa con los valores de hemoglobina glicosilada en nuestra muestra.
5. Nuestros diabéticos tienen niveles más bajos de uricemia en relación con un posible mecanismo de uricosuria secundario a otro de glucosuria.
6. Los niveles de AST de diabéticos son más bajos respecto a población sana lo que podría relacionarse con un menor tamaño pancreático.
7. En los pacientes con diabetes no se ha podido demostrar un estado proinflamatorio al presentar niveles similares de adiponectina, leptina, IL6, TNF α y PCR us y demostrar unas variaciones en cuanto a edad, sexo y estadio puberal similares a los de la población control.
8. Los niveles de TNF α y PCR us son más elevados en pacientes con diabetes con un peor control metabólico.
9. Las mujeres con DM1 presentan niveles más elevados de PCR us respecto a los varones.
10. Los niveles de homocisteína están más bajos en los pacientes con diabetes.
11. No se han demostrado otras alteraciones respecto a población sana en los parámetros de coagulación básica, de alteraciones endoteliales o de la fibrinólisis en sujetos con diabetes.

Conclusiones

12. Los pacientes varones con diabetes presentan niveles más altos de Fvw Ag que las mujeres.
13. Un peor control metabólico en la DM1 puede estar en relación con un incremento en los niveles de PAI 1, ATIII y FVW.
14. Las diferencias con los datos publicados por otros autores en lo referente a parámetros inflamatorios, de coagulación y de fibrinólisis podrían estar en relación al mejor control metabólico de nuestra muestra, lo que remarca la necesidad de seguir usando la HbA1c como medida de control metabólico.

BIBLIOGRAFÍA



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

1. Recommendations from the International Workshop on the Epidemiology of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Philadelphia, Pennsylvania October 1983. *Diabetes Care* 1985;8 Suppl 1:5-9.
2. Patterson CC, Gyürüs E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E et al. Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989–2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia* 2012;55:2142-7.
3. The DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990–1999. *Diabet Med* 2006;23:857-66.
4. Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop P. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA* 2013;310:427-8.
5. Silink M. Childhood Diabetes: A Global Perspective. *Horm Res* 2002;57(suppl 1):1-5.
6. Goday A, Serrano-Ríos M, Castell C, Lloveras G, Gutiérrez R, Martull P et al. Los estudios de incidencia de diabetes mellitus tipo 1 en España. Análisis comparativo y consenso de metodología estandarizada. *Avances en Diabetología* 1996;12:24-8.
7. Rivas MF, García S, Díaz F, Castaño G, Alonso J, Prieto J, grupo de diabetes de Asturias. Diabetes tipo 1 en niños: Incidencia en Asturias. *An Esp Pediatr* 1998;11:63.
8. Giralt Muiña P, Ballester Herrera MJ, Palomo Atance E, Angulo Donado JJ, Sánchez G, Santillana Ferrer L. Estudio epidemiológico de la diabetes tipo 1, en menores de 15 años en Castilla-La Mancha. *An Pediatr (Barc)* 2012;76:83-91.
9. Bahillo MP, Hermoso F, García C. Epidemiología de la diabetes tipo 1 en menores de 15 años en las provincias de Castilla y León. *An Pediatr (Barc)* 2006;65:15-21.

Bibliografía

10. Manzano F, Prieto J, Cedeño J, Álvarez E. Incremento de la diabetes mellitus tipo 1 en nuestro medio. Premio Laboratorio Ordesa de Investigación 2004 sobre Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria 2004.
11. Conde Barreiro S, Rodríguez Rigual M, Bueno Lozano G, López Siguero JP, González Pelegrín B, Rodrigo Val MP et al. Epidemiología de la diabetes mellitus tipo 1 en menores de 15 años en España. *An Pediatr (Barc)* 2014;81:189.e1-.e12.
12. Felner EI, Klitz W, Ham M, Lazaro AM, Stastny P, Dupont B et al. Genetic interaction among three genomic regions creates distinct contributions to early- and late-onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2005;6:213-20.
13. SEARCH for diabetes in youth study group. Incidence of diabetes in youth in the united states. *JAMA* 2007;297:2716-24.
14. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA* 2014;311:1778-86.
15. Moltchanova EV, Schreier N, Lammi N, Karvonen M. Seasonal variation of diagnosis of type 1 diabetes mellitus in children. *Diabet Med* 2009;26:673-78.
16. Kahn HS, Morgan T, Case LD, Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Lawrence JM et al. Association of type 1 diabetes with month of birth among US youth: the SEARCH for Diabetes in Youth study. *Diabetes Care* 2009;32:2010-5.
17. Tuomilehto J. The Emerging Global Epidemic of Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep* 2013;13:795-804.
18. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, Green A, Soltész G; EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009;373:2027-33.

19. Berhan Y, Waernbaum I, Lind T, Möllsten A, Dahlquist G, Swedish Childhood Diabetes Study Group. Thirty Years of Prospective Nationwide Incidence of Childhood Type 1 Diabetes: The Accelerating Increase by Time Tends to Level Off in Sweden. *Diabetes* 2011;60:577-81.
20. Soltesz G, Patterson C, Dahlquist G; EURODIAB Study Group. Worldwide childhood type 1 diabetes incidence - what can we learn from epidemiology? *Pediatr Diabetes* 2007;8:6-14.
21. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet* 2014;383:69-82.
22. Keenan HA, Sun J, Levine J, Doria A, Aiello LP, Eisenbarth G et al. Residual insulin production and pancreatic beta-cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin Medalist Study. *Diabetes* 2010;59:2846-53.
23. Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 1965;14:619-33.
24. Willcox A, Richardson S, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 2009;155:173-81.
25. Campbell-Thompson M, Wasserfall C, Montgomery EL, Atkinson MA, Kaddis JS. Pancreas organ weight in individuals with disease-associated autoantibodies at risk for type 1 diabetes. *JAMA* 2012;308:2337-9.
26. Bottazzo GF, Dean B, Mc Nally JM, MacKay EH, Swift PG, Gamble DR. In situ characterization of autoimmune phenomena and expression of HLA molecules in the pancreas in diabetic insulinitis. *N Engl J Med* 1985;313:353-60.
27. Bottazzo GF, Bosi E, Bonifacio E, Mirakian R, Todd I, Pujol-Borrell R. Pathogenesis of type 1 diabetes. Possible mechanisms of autoimmune damage. *Br Med Bull* 1989;45:37-57.

28. Foulis AK, Farquharson M, Meager A. Interferon alfa inmunorreactivo y células beta secretoras de insulina en la diabetes mellitus tipo 1. *Lancet* (ed esp) 1988;12:293-8.
29. Nerup J, Mandrup Poulsen T, Molvig J, Helqvist S, Wogensen L, Egeberg J. Mechanisms of pancreatic beta cell destruction in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1988;11:16-23.
30. Sabbah E, Savola K, Kulmala P, Veijola R, Vähäsalo P, Karjalainen J et al. Diabetes-Associated Autoantibodies in Relation to Clinical Characteristics and Natural Course in Children with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1534-9.
31. Greenbaum CJ, Sears K, Kahn SE, Palmer JP. Relationship of beta cell function and autoantibodies to progression and nonprogression of subclinical type 1 diabetes: Follow up of the Seattle family study. *Diabetes* 1999;48:170-5.
32. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, Vähäsalo P, Karjalainen J, Löppönen T et al. Prediction of insulin dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes. A population based study. *J Clin Invest* 1998;101:327-36.
33. Atkinson MA, Maclaren NK. The Pathogenesis of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1994;331:1428-36.
34. Pietropaolo M, Hutton J, Eisenbarth GS. Protein tyrosine phosphatase-like proteins: link with IDDM. *Diabetes Care* 1997;20 (2):208.
35. Hawa M, Rowe R, Lan MS, Notkins AL, Pozzilli P, Christie MR et al. Value of Antibodies to Islet Protein Tyrosine Phosphatase-Like Molecule in Predicting Type 1 Diabetes. *Diabetes* 1997;46:1270-5.
36. Pietropaolo M, Becker D, Dorman JS. Are GAD 65 and IA-2 autoantibodies sufficient to predict type 1 diabetes? *Diabetes* 1999;48:A45.
37. Achenbach P, Koczwara K, Knopff A, Naserke H, Ziegler AG, Bonifacio E. Mature high-affinity immune responses to (pro)insulin anticipate

the autoimmune cascade that leads to type 1 diabetes. *J Clin Invest* 2004;114:589-97.

38. Vardi P, Dib S, Tuttleman M, Connelly JE, Grinbergs M, Radizabeh A et al. Competitive insulin antibody assay. Prospective evaluation of subjects at high risk for development of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes* 1987;36:1286-91.

39. Bodansky HJ, Dean B, Bottazzo GF. Anticuerpos frente a las células insulares y autoanticuerpos antiinsulina asociados a infecciones víricas comunes. *Lancet (ed esp)* 1987;10:259-61.

40. Baekkeskov S, Aanstoot H-J, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M et al. Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990;347:151-6.

41. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17040-5.

42. Wenzlau JM, Walter M, Gardner TJ, Frisch LM, Yu L, Eisenbarth GS et al. Kinetics of the Post-Onset Decline in Zinc Transporter 8 Autoantibodies in Type 1 Diabetic Human Subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:4712-9.

43. Martin S, Wolf-Eichbaum D, Duinkerken G, Scherbaum WA, Kolb H, Noordzij JG et al. Development of Type 1 Diabetes despite Severe Hereditary B-Cell Deficiency. *N Engl J Med* 2001;345:1036-40.

44. Thomson G, Robinson W, Kuhner MK, Joe S, MacDonald MJ, Gottschall JL et al. Genetic heterogeneity, modes of inheritance, and risk estimates for a joint study of caucasians with insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* 1998;43:799-816.

45. Lorenzen T, Pociot F, Stilgren L. Predictors of IDDM recurrence risk in offspring of Danish IDDM patients. Danish IDDM Epidemiology and Genetics Group. *Diabetologia* 1998;41:666-73.
46. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE et al. A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994;371:130-6.
47. Khalil I, d'Auriol L, Gobet M, Morin L, Lepage V, Deschamps I et al. A combination of HLA-DQ beta Asp57-negative and HLA DQ alpha Arg52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1990;85:1315-9.
48. Tisch R, McDevitt H. Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Cell* 1996;85:291-7.
49. Rowe RE, Leech NJ, Nepom GT, McCulloch DK. High Genetic Risk for IDDM in the Pacific Northwest: First Report From the Washington State Diabetes Prediction Study. *Diabetes* 1994;43:87-94.
50. Undlien DE, Friede T, Rammensee H-G, Joner G, Dahl-Jorgensen K, Sovik O et al. HLA-Encoded Genetic Predisposition in IDDM: DR4 Subtypes May Be Associated With Different Degrees of Protection. *Diabetes* 1997;46:143-9.
51. Baschal EE, Aly TA, Babu SR, Fernando MS, Yu L, Miao D et al. HLA-DPB1*0402 Protects Against Type 1A Diabetes Autoimmunity in the Highest Risk DR3-DQB1*0201/DR4-DQB1*0302 DAISY Population. *Diabetes* 2007;56:2405-9.
52. Pugliese A, Gianani R, Moromisato R, Awdeh ZL, Alper CA, Erlich HA et al. 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;44:608-13.
53. Redondo MJ, Rewers M, Yu L, Garg S, Pilcher CC, Elliot RB et al. Genetic determination of islet cell autoimmunity in monozygotic twin,

dizygotic twin, and non-twin siblings of patients with type 1 diabetes: prospective twin study. *BMJ* 1999;318:698-702.

54. Bell GI, Horita S, Karam JH. A Polymorphic Locus Near the Human Insulin Gene Is Associated with Insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Diabetes* 1984;33:176-83.

55. Barratt BJ, Payne F, Lowe CE, Hermann R, Healy BC, Harold D et al. Remapping the Insulin Gene/IDDM2 Locus in Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2004;53:1884-9.

56. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, Rahmouni S, Nika K, Rostamkhani M et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type 1 diabetes. *Nat Genet* 2004;36:337-8.

57. Smyth D, Cooper JD, Collins JE, Heward JM, Franklyn JA, Howson JM et al. Replication of an Association Between the Lymphoid Tyrosine Phosphatase Locus (LYP/PTPN22) With Type 1 Diabetes, and Evidence for Its Role as a General Autoimmunity Locus. *Diabetes* 2004;53:3020-3.

58. Awata T, Kurihara S, Kikuchi Ch, Takei S, Inoue I, Ishii C et al. Evidence for association between the class I subset of the insulin gene minisatellite (IDDM2 locus) and IDDM in the Japanese population. *Diabetes* 1997;46:1637-42.

59. Pugliese A. Genetics of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004;33:1.

60. Pugliese A, Fernández A, Bartlett RJ. Monoallelic expression of the insulin gene message in the human thymus provides additional evidence for parenteral imprinting. *J Autoimmun* 1995;21:15.

61. Kavvoura FK, Ioannidis JPA. CTLA-4 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Type 1 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *Am J Epidemiol* 2005;162:3-16.

62. Kolb H. Mouse models of insulin dependent diabetes: Low-dose streptozocin-induced diabetes and nonobese diabetic (NOD) mice. *Diabetes Metab Rev* 1987;3:751-78.
63. Rothe H, Jenkins NA, Copeland NG, Kolb H. Active stage of autoimmune diabetes is associated with the expression of a novel cytokine, IGIF, which is located near Idd2. *J Clin Invest* 1997;99:469-74.
64. Almawi WY, Tamim H, Azar ST. T Helper Type 1 and 2 Cytokines Mediate the Onset and Progression of Type I (Insulin-Dependent) Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1497-502.
65. Wildin RS, Freitas A. IPEX and FOXP3: clinical and research perspectives. *J Autoimmun* 2005;25:Suppl:56.
66. Risch N. Linkage strategies for genetically complex traits: The power of affected relative pairs. *Am J Hum Genet* 1990;46:229-41.
67. Risch N. Assessing the role of HLA linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet* 1987;54:909-12.
68. Redondo MJ, Yu L, Hawa M. Late progression to type 1 diabetes of discordant twins of patients with type 1 diabetes: Combined analysis of two twin series (United States and United Kingdom). *Diabetes* 1999;48:780.
69. Gale EA. The Rise of Childhood Type 1 Diabetes in the 20th Century. *Diabetes* 2002;51:3353-61.
70. Serrano Ríos M, Goday A, Martínez Larrad T. Migrant populations and the incidence of type 1 diabetes mellitus: an overview of the literature with a focus on the Spanish-heritage countries in Latin America. *Diabetes Metab Res Rev* 1999;15:113-32.
71. Parslow RC, McKinney PA, Law GR, Staines A, Williams R, Bodansky HJ. Incidence of childhood diabetes mellitus in Yorkshire, northern England, is associated with nitrate in drinking water: an ecological analysis. *Diabetologia* 1997;40:550-6.

72. Dahlquist GG, Patterson C, Soltesz G. Perinatal risk factors for childhood type 1 diabetes in Europe. *Diabetes Care* 1999;22:1698-702.
73. Hippönen E, Kenward MG, Virtanen SM, Piitulainen A, Virta-Autio P, Tuomilehto J et al. Infant feeding, early weight gain risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1961-5.
74. Virtanen SM, Saukkonen T, Savilahti E, Ylönen K, Räsänen L, Aro A et al. Diet, cow's milk protein antibodies and the risk of IDDM in Finnish children. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetologia* 1994;37(4):381.
75. Ellis TM, Ottendorfer E, Jodoin E. Cellular immune responses to beta casein: elevated in but not specific for individuals with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998;41:731-5.
76. Castaño L. Leche de vaca y etiopatogenia de la diabetes mellitus tipo 1: ¿la punta del iceberg? *An Pediatr (Barc)* 1998;11.
77. Morgan JW, Sliney D, Morgan DM, Maizel AL. Differential regulation of gene transcription in subpopulations of human B lymphocytes by vitamin D3. *Endocrinology* 1999;140:381-91.
78. The EURODIAB substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999;42:51-4.
79. Norris JM, Yin X, Lamb MM, Barriga K, Seifert J, Hoffman M et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes. *JAMA* 2007;298:1420.
80. Surwit RS, Schneider M, Feinglos MN. Stress and diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1992;15:1413-22.
81. King ML, Shaikh A, Bidwell D, Voller A, Banatvala JE. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type I) diabetes mellitus. *Lancet* 1983;25:1397-9.

Bibliografia

82. Menser MA, Forrest J, Bransby RD. Rubella infection and diabetes mellitus. *Lancet* 1978;1:57-60.
83. Gamble DR. Relation of antecedent illness to development of diabetes in children. *BMJ* 1980;2:99-101.
84. Yoon JW, Austin M, Onodera T, Notkins AL. Virus-Induced Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1979;300:1173-9.
85. Dotta F, Censini S, van Halteren AG, Marselli L, Masini M, Dionisi S et al. Coxsackie B4 virus infection of β cells and natural killer cell insulinitis in recent-onset type 1 diabetic patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:5115-20.
86. Atkinson MA, Bowman MA, Campbell L, Darrow BL, Kaufman DL, Maclaren NK. Cellular immunity to a determinant common to glutamate decarboxylase and coxsackie virus in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1994;94:2125-9.
87. Pak CY, Eun H, Mc Arthur RG, Yoon JW. Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type 1 diabetes. *Lancet* 1988;2:1-4.
88. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Childhood Vaccination and Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2004;350:1398-404.
89. Villeneuve LM, Reddy M, Natarajan R. Epigenetics: Deciphering its role in Diabetes and its Chronic Complications. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011;38:401-9.
90. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-20.
91. Qian Y, Feldman E, Pennathur S, Kretzler M, Brosius FC. From fibrosis to sclerosis: mechanisms of glomerulosclerosis in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2008;57:1439-45.

92. Roy S, Sala R, Cagliero E, Lorenzi M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:404-8.
93. El-Osta A, Brasacchio D, Yao D, Poci A, Jones PL, Roeder RG et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J Exp Med* 2008;205:2409-17.
94. Ihnat MA, Thorpe J, Kamat CD, Szabó C, Green DE, Warnke LA et al. Reactive oxygen species mediate a cellular memory of high glucose stress signalling. *Diabetologia* 2007;50:1523-31.
95. Schmidt AM, Yan S, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001;108:949-55.
96. Roth SY, Denu J, Allis CD. Histone acetyltransferases. *Annu Rev Biochem* 2001;70:81-120.
97. Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:838-49.
98. Miranda TB, Jones P. DNA methylation: the nuts and bolts of repression. *J Cell Physiol* 2007;213:384-90.
99. Vaissiere T, Sawan C, Herceg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res* 2008;659:40-8.
100. Gray SG, De Meyts P. Role of histone and transcription factor acetylation in diabetes pathogenesis. *Diabetes Metab Res Rev* 2005;21:416-33.
101. Ito K, Hanazawa T, Tomita K, Barnes PJ, Adcock IM. Oxidative stress reduces histone deacetylase 2 activity and enhances IL-8 gene expression: role of tyrosine nitration. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;315:240-5.
102. Berghe WV, De Bosscher K, Boone E, Plaisance S, Haegeman G. The nuclear factor-kappaB engages CBP/p300 and histone acetyltransferase

activity for transcriptional activation of the interleukin-6 gene promoter. *J Biol Chem* 1999;274:32091-8.

103. Miao F, Gonzalo I, Lanting L, Natarajan R. In vivo chromatin remodeling events leading to inflammatory gene transcription under diabetic conditions. *J Biol Chem* 2004;279:18091-7.

104. Miao F, Smith D, Zhang L, Min A, Feng W, Natarajan R. Lymphocytes from patients with type 1 display a distinct profile of chromatin histone H3 lysine 9 dimethylation: an epigenetic study in diabetes. *Diabetes* 2008;57:3189-98.

105. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 Diabetes Mellitus: Etiology, Presentation, and Management. *Pediatr Clin North Am* 2005;52:1553-78.

106. Roche EF, Menon A, Gill D, Hoey H. Clinical presentation of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2005;6:75-8.

107. Datta V, Swift PGF, Woodruff GHA, Harris RF. Metabolic cataracts in newly diagnosed diabetes. *Arch Dis Child* 1997;76:118-20.

108. Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, Standiford DA, Lawrence JM, Saydah S et al. Trends in the Prevalence of Ketoacidosis at Diabetes Diagnosis: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* 2014;133:e938-e45.

109. Klingensmith GJ, Tamborlane WV, Wood J, Haller MJ, Silverstein J, Cengiz E et al. Diabetic Ketoacidosis at Diabetes Onset: Still an All Too Common Threat in Youth. *J Pediatr* 2013;162:330-4.e1.

110. Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS et al. Clinical Characteristics of Children Diagnosed With Type 1 Diabetes Through Intensive Screening and Follow-Up. *Diabetes Care* 2004;27:1399-404.

111. American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes—2011. *Diabetes Care* 2011;34:S11-S61.

112. American Diabetes A. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2014;37:S81-S90.
113. Gonder-Frederick LA, Zrebiec JF, Bauchowitz AU, Ritterband LM, Magee JC, Cox DJ et al. Cognitive Function Is Disrupted by Both Hypo- and Hyperglycemia in School-Aged Children With Type 1 Diabetes: A Field Study. *Diabetes Care* 2009;32:1001-6.
114. Laffel LMB, Vangsness L, Connell A, Goebel-Fabbri A, Butler D, Anderson BJ. Impact of ambulatory, family-focused teamwork intervention on glycemic control in youth with type 1 diabetes. *J Pediatr* 2003;142:409-16.
115. De Beaufort C, Jarosz-Chobot P, Frank M, De Bart J, Deja G. Transition from pediatric to adult diabetes care: smooth or slippery? *Pediatr Diabetes* 2010;11:24-7.
116. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
117. Yates K, Hasnat Milton A, Dear K, Ambler G. Continuous Glucose Monitoring–Guided Insulin Adjustment in Children and Adolescents on Near-Physiological Insulin Regimens: A randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2006;29:1512-7.
118. Tamborlane WV, Beck R, Bode BW, Buckingham B, Chase HP, Clemons R et al. Continuous Glucose Monitoring and Intensive Treatment of Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:1464-76.
119. Danne T, Lange K, Kordonouri O. Real-Time Glucose Sensors in Children and Adolescents with Type-1 Diabetes. *Horm Res* 2008;70:193-202.
120. Slover RH, Welsh JB, Criego A, Weinzimer SA, Willi SM, Wood MA et al. Effectiveness of sensor-augmented pump therapy in children and adolescents with type 1 diabetes in the STAR 3 study. *Pediatr Diabetes* 2012;13:6-11.

121. Ly TT, Nicholas JA, Retterath A, Lim E, Davis EA, Jones TW. Effect of sensor-augmented insulin pump therapy and automated insulin suspension vs standard insulin pump therapy on hypoglycemia in patients with type 1 diabetes: A randomized clinical trial. *JAMA* 2013;310:1240-7.
122. Hovorka R, Allen JM, Elleri D, Chassin LJ, Harris J, Xing D et al. Manual closed-loop insulin delivery in children and adolescents with type 1 diabetes: a phase 2 randomised crossover trial. *Lancet* 2010;375:743-51.
123. Russell SJ, El-Khatib FH, Sinha M, Magyar KL, McKeon K, Goergen LG et al. Outpatient Glycemic Control with a Bionic Pancreas in Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2014;371:313-25.
124. Barnea-Goraly N, Raman M, Mazaika P, Marzelli M, Hershey T, Weinzimer SA et al. Alterations in white matter structure in young children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2014;37:332-40.
125. Monnier L, Colette C, and Owens D R. Glycemic variability: the third component of the dysglycemia in diabetes. Is it important? How to measure it? *J Diabetes Sci Technol* 2008;2:1094-100.
126. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *J Pediatr* 1994;125 (2):177-88.
127. Alemzadeh R, Ellis JN, Holzum MK, Parton EA, Wyatt DT. Beneficial Effects of Continuous Subcutaneous Insulin Infusion and Flexible Multiple Daily Insulin Regimen Using Insulin Glargine in Type 1 Diabetes. *Pediatrics* 2004;114:e91-e5.
128. Gale EA. Dying of diabetes. *Lancet* 2006;368:1626-8.
129. Beran D, Yudkin J, de Courten M. Access to care for patients with insulin-requiring diabetes in developing countries: case studies of Mozambique and Zambia. *Diabetes Care* 2005;28:2136-40.

130. Fisher LK. The selection of children and adolescents for treatment with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII). *Pediatr Diabetes* 2006;7:11-4.
131. Phillip M, Battelino T, Rodriguez H, Danne T, Kaufman F. Use of Insulin Pump Therapy in the Pediatric Age-Group: Consensus statement from the European Society for Paediatric Endocrinology, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes, endorsed by the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:1653-62.
132. Barrio Castellanos R, García Cuartero B, Gómez Gila A, González Casado I, Hermoso López F, Luzuriaga Tomás C et al. Consensus document on continuous subcutaneous insulin infusión (CSII) treatment in paediatrics with type I diabetes. *An Pediatr (Barc)* 2010;72:352.
133. Doyle EA, Weinzimer SA, Steffen AT, Ahern JAH, Vincent M, Tamborlane WV. A Randomized, Prospective Trial Comparing the Efficacy of Continuous Subcutaneous Insulin Infusion With Multiple Daily Injections Using Insulin Glargine. *Diabetes Care* 2004;27:1554-8.
134. Pickup JC, Sutton AJ. Severe hypoglycaemia and glycaemic control in Type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabet Med* 2008;25:765-74.
135. McMahon SK, Airey FL, Marangou DA, McElwee KJ, Carne CL, Clarey AJ et al. Insulin pump therapy in children and adolescents: improvements in key parameters of diabetes management including quality of life. *Diabet Med* 2005;22:92-6.
136. Bao J, Gilbertson H, Gray R, Munns D, Howard G, Petocz P et al. Improving the estimation of mealtime insulin dose in adults with type 1 diabetes: the normal insulin demand for dose adjustment (NIDDA) study. *Diabetes Care* 2011;34:2146-51.

137. Gin H. Physiopathology of post-prandial hyperglycemia. *Diabetes Metab* 2000;26:7-11.
138. Mansour A, Hosseini S, Larijani B, Pajouhi M, Mohajeri-Tehrani MR. Nutrients related to GLP1 secretory responses. *Nutrition* 2013;29:813-20.
139. Smart C, Evans M, M O'Connell S, McElduff P, Lopez PE, Jones TW et al. Both dietary protein and fat increase postprandial glucose excursions in children with type 1 diabetes, and the effect is additive. *Diabetes Care* 2013;36:3897-902.
140. Riddell MC, Miadovnik L, Simms M, Li B, Zisser H. Advances in exercise, physical activity and diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther* 2013;15:96-106.
141. Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. Beta-cell function and the development of diabetes-related complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2003;26:832-6.
142. Greenbaum CJ, Beam C, Boulware D, Gitelman SE, Gottlieb PA, Herold KC et al. Fall in C-peptide during first 2 years from diagnosis: evidence of at least two distinct phases from composite type 1 diabetes TrialNet data. *Diabetes* 2012;61:2066-73.
143. Wang P, Fiaschi-Taesch NM, Vasavada RC, Scott DK, Garcia-Ocana A, Stewart AF. Diabetes mellitus-advances and challenges in human [beta]-cell proliferation. *Nat Rev Endocrinol* 2015;11(4): 201-12.
144. Knip M, Virtanen S, Seppä K, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O et al. Finnish TRIGR Study Group. Dietary intervention in infancy and later signs of beta-cell autoimmunity. *N Engl J Med* 2010;363:1900-8.
145. Vaarala O, Ilonen J, Ruotula T, Pesola J, Virtanen SM, Härkönen T et al. Removal of bovine insulin from cow's milk formula and early initiation of beta-cell autoimmunity in the FINDIA pilot study. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2012;166:608-14.

146. Skyler JS, Krischer J, Wolfsdorf J, Cowie C, Palmer JP, Greenbaum C et al. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: the Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care* 2005;28:1068-76.
147. Silverstein J, Maclaren N, Riley W, Spillar R, Radjenovic D, Johnson S. Immunosuppression with Azathioprine and Prednisone in Recent-Onset Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1988;319:599-604.
148. Gottlieb PA, Quinlan S, Krause-Steinrauf H, Greenbaum CJ, Wilson DM, Rodríguez H et al. Failure to Preserve β -Cell Function With Mycophenolate Mofetil and Daclizumab Combined Therapy in Patients With New-Onset Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:826-32.
149. Bougnères P-F, Landais P, Boisson C, Carel JC, Frament N, Boitard C et al. Limited Duration of Remission of Insulin Dependency in Children With Recent Overt Type I Diabetes Treated With Low-Dose Cyclosporin. *Diabetes* 1990;39:1264-72.
150. Christie MR, Mølviq J, Hawkes CJ, Carstensen B, Mandrup-Poulsen T, the Canadian-European Randomised Control Trial G. IA-2 Antibody-Negative Status Predicts Remission and Recovery of C-Peptide Levels in Type 1 Diabetic Patients Treated With Cyclosporin. *Diabetes Care* 2002;25:1192-7.
151. Chatenoud L, Thervet E, Primo J, Bach JF. Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:123-7.
152. Herold KC, Hagopian W, Auger JA, Poumian-Ruiz E, Taylor L, Donaldson D et al. Anti-CD3 Monoclonal Antibody in New-Onset Type 1 Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 2002;346:1692-8.
153. Hagopian W, Ferry RJ, Sherry N, Carlin D, Bonvini E, Johnson S et al. Teplizumab Preserves C-Peptide in Recent-Onset Type 1 Diabetes: Two-Year Results From the Randomized, Placebo-Controlled Protégé Trial. *Diabetes* 2013;62:3901-8.

154. Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G et al. Insulin Needs after CD3-Antibody Therapy in New-Onset Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2005;352:2598-608.
155. Keymeulen B, Walter M, Mathieu C, Kaufman L, Gorus F, Hilbrands R et al. Four-year metabolic outcome of a randomised controlled CD3-antibody trial in recent-onset type 1 diabetic patients depends on their age and baseline residual beta cell mass. *Diabetologia* 2010;53:614-23.
156. Moran A, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R et al. Interleukin-1 antagonism in type 1 diabetes of recent onset: two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trials. *Lancet* 2013;381:1905-15.
157. Boitard C, Timsit J, Assan R. Treatment of type 1 diabetes mellitus with DAB486-IL2, a toxin conjugate which targets activated T-lymphocytes. *Diabetologia* 1992;35:218.
158. Tisch R, Liblau RS, Yang XD, Liblau P, McDevitt HO. Induction of GAD65-specific regulatory T-cells inhibits ongoing autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *Diabetes* 1998;47:894-9.
159. Ludvigsson J, Faresjö M, Hjorth M, Axelsson S, Cheramy M, Pihl M et al. GAD Treatment and Insulin Secretion in Recent-Onset Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2008;359:1909-20.
160. Mastrandrea L, Yu J, Behrens T, Buchlis J, Albini C, Fournier S et al. Etanercept Treatment in Children With New-Onset Type 1 Diabetes: Pilot randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Diabetes Care* 2009;32:1244-9.
161. Rother KI, Brown RJ, Morales MM, Wright E, Duan Z, Campbell C et al. Effect of Ingested Interferon- α on β -Cell Function in Children With New-Onset Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:1250-5.

162. Pozzilli P, Browne P, Kolb H. Meta-analysis of nicotinamide treatment in patients with recent-onset IDDM. The Nicotinamide Trialists. *Diabetes Care* 1996;19:1357-63.
163. Gale EAM. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes. *Lancet* 2004;363:925-31.
164. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia* 1999;42:51-4.
165. Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin M-R, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358:1500-3.
166. Mayer-Davis EJ, Dabelea D, Crandell JL, Crume T, D'Ágostino RB Jr, Dolan L et al. Nutritional Factors and Preservation of C-Peptide in Youth With Recently Diagnosed Type 1 Diabetes: SEARCH Nutrition Ancillary Study. *Diabetes Care* 2013;36:1842-50.
167. Galera Martínez R, García García E, Gámez Gómez MD, Gómez Llorente JL, Garrido Fernández P, Bonillo Perales A. Talla final en diabéticos tipo 1 diagnosticados en la edad pediátrica. *An Pediatr (Barc)* 2009;70:235-40.
168. Kim MS, Quintos J. Mauriac syndrome: growth failure and type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Endocrinol Rev* 2008;5:989-93.
169. Rohrer TR, Wolf J, Liptay S, Zimmer KP, Fröhlich-Reiterer E, Scheuing N et al. Microvascular Complications in Childhood-Onset Type 1 Diabetes and Celiac Disease: A Multicenter Longitudinal Analysis of 56,514 Patients From the German-Austrian DPV Database. *Diabetes Care* 2015.
170. Barry IJ, Larry AD. Diabetes mellitus and hypothyroidism: strange bedfellows or mutual companions? *World J Diabetes* 2014;15:901-4.

171. Cai Y, Manio MM, Leung G, Xu A, Tang E, Vanhoutte PM. Thyroid hormone affects both endothelial and vascular smooth muscle cells in rat arteries. *Eur J Pharmacol* 2015;747:18-28.
172. Grey M, Whittemore R, Tamborlane W. Depression in Type 1 diabetes in children. *J Psychosom Res*;53:907-11.
173. Lawrence JM, Standiford DA, Loots B, Klingensmith GJ, Williams DE, Ruggiero A et al. Prevalence and Correlates of Depressed Mood Among Youth With Diabetes: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* 2006;117:1348-58.
174. Ackard DM, Vik N, Neumark-Sztainer D, Schmitz KH, Hannan P, Jacobs DR. Disordered eating and body dissatisfaction in adolescents with type 1 diabetes and a population-based comparison sample: comparative prevalence and clinical implications. *Pediatr Diabetes* 2008;9:312-9.
175. Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD. Advanced Glycation End Products Are Associated With Pulse Pressure in Type 1 Diabetes: The EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension* 2005;46:232-7.
176. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications. A Unifying Mechanism. *Diabetes* 2005;54:1615-25.
177. Kaiser N, Sasson S, Feener EP, Boukobza-Vardi N, Higashi S, Moller DE et al. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes* 1993;42:80-9.
178. Gabbay KH, Merola L, Field RA. Sorbitol pathway: presence in nerves and cord with substrate accumulation in diabetes. *Science* 1966;151:109-10.
179. Lee AY, Chung S. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J* 1999;13:23-30.

180. Engerman RL, Kern T, Larson ME. Nerve conduction and aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosaemia in dogs. *Diabetologia* 1994;37:141-4.
181. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity: a model for intracellular glycosylation in diabetes. *J Clin Invest* 1994;94:110-7.
182. Charonis AS, Reger L, Dege JE, Kouzi-Koliakos K, Furch LT, Wohlhueter RM et al. Laminin alterations after in vitro nonenzymatic glycosylation. *Diabetes* 1990;39:807-14.
183. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988;240:1546-8.
184. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:11555-8.
185. Xia P, Inoguchi T, Kern TS, Engerman RL, Oates PJ, King GL. Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol-protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes* 1994;43:1122-9.
186. Ishii H, Jirousek M, Koya D, Takagi C, Xia P, Clermont A et al. Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor. *Science* 1996;272:728-31.
187. Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehman R, Schleicher ED. High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 1998;101:160-9.
188. Du X, Matsumura T, Edelstein D, Rossetti L, Zsengeller Z, Szabó C et al. Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates

three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. *J Clin Invest* 2003;112:1049-57.

189. Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LMB, Peters AL. Type 1 Diabetes Through the Life Span: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2014;37:2034-54.

190. Theochari MA, Vyssoulis GP, Toutouzas PK, Bartsocas CS. Arterial blood pressure changes in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Pediatr* 1996;129:667-70.

191. Guntsche Z, Saraví FD, Reynals EA, Rauek B, Rauek M, Guntsche EM. Parental hypertension and 24 h-blood pressure in children prior to diabetic nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2002;17:157-64.

192. Rodriguez BL, Dabelea D, Liese AD, Fujimoto W, Waitzfelder B, Liu L et al. Prevalence and Correlates of Elevated Blood Pressure in Youth with Diabetes Mellitus: The Search for Diabetes in Youth Study. *J Pediatr* 2010;157:245-51.e1.

193. Verrotti A, Lobefalo L, Chiarelli F, Mastropasqua L, Ciancaglini M, Morgese G. Colour vision and persistent microalbuminuria in children with type-1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a longitudinal study. *Diabetes Res Clin Pract* 1996;30:125-30.

194. Orchard TJ, Costacou T, Kretowski A, Nesto RW. Type 1 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care* 2006;29:2528-38.

195. Maser RE, Wolfson SJ, Ellis D, Stein EA, Drash AL, Becker DJ et al. Cardiovascular disease and arterial calcification in insulin-dependent diabetes mellitus: interrelations and risk factor profiles. Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study-V. *Arterioscler Thromb* 1991;11:958-65.

196. Nathan DM, Cleary P, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005;353:2643-53.

197. Eckel RH, Eisenbarth G. Autoimmune diabetes inflames the heart. *Sci Transl Med* 2012;4:138fs18.
198. Gottumukkala RV, Lv H, Cornivelli L, Wagers AJ, Kwong RY, Bronson R et al. Myocardial infarction triggers chronic cardiac autoimmunity in type 1 diabetes. *Sci Transl Med* 2012;4:138ra80.
199. Ladeia AM, Riberiro R, Costa M, Adan LF. Prognostic value of endothelial dysfunction in type 1 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2014;15:601-5.
200. Järvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S et al. Endothelial Dysfunction and Increased Arterial Intima-Media Thickness in Children With Type 1 Diabetes. *Circulation* 2004;109:1750-5.
201. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993;88:2510-6.
202. Ceriello A, Novials A, Ortega E, La Sala L, Pujadas G, Testa R et al. Evidence That Hyperglycemia After Recovery From Hypoglycemia Worsens Endothelial Function and Increases Oxidative Stress and Inflammation in Healthy Control Subjects and Subjects With Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2012;61:2993-7.
203. Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Nicod P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J Clin Invest* 1994;94:2511-5.
204. Johansson BL, Borg K, Fernqvist-Forbes E, Kernell A, Odergren T, Wahren J. Beneficial effects of C-peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2000;17:181-9.
205. Glowinska-Olszewska B, Moniuszko M, Hryniewicz A, Jeznach M, Rusak M, Dabrowska M et al. Relationship between circulating endothelial progenitor cells (EPCs) and endothelial dysfunction in children with type 1

diabetes - a novel paradigm of early atherosclerosis in high-risk young patients. *Eur J Endocrinol* 2013;168:153-61.

206. Loomans CJM, de Koning EJP, Staal FJT, Rookmaaker MB, Verseyden C, De Boer HC et al. Endothelial Progenitor Cell Dysfunction: A Novel Concept in the Pathogenesis of Vascular Complications of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2004;53:195-9.

207. Tousoulis D, Papageorgiou N, Androulakis E, Siasos G, Latsios G, Tentolouris K et al. Diabetes Mellitus-Associated Vascular Impairment: Novel Circulating Biomarkers and Therapeutic Approaches. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:667-76.

208. Celermajer DS, Sorensen K, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.

209. Bruzzi P, Predieri B, Patianna VD, Salvini A, Rossi R, Modena MG et al. Longitudinal evaluation of endothelial function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: A long-term follow-up study. *Pediatr Int* 2014;56:188-95.

210. Chen J, Fu X, Wang Y, Ling M, Mc Mullen B, Kullman J et al. Oxidative modification of von Willebrand factor by neutrophil oxidants inhibits its cleavage by ADAMTS13. *Blood* 2012;115:706-12.

211. Leopold JA, Loscalzo J. Oxidative risk for atherothrombotic cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2009;47:1673-706.

212. Oggianu L, Lancellotti S, Pitocco D, Zaccardi F, Rizzo P, Martini F et al. The oxidative modification of von Willebrand factor is associated with thrombotic angiopathies in diabetes mellitus. *PLoS One* 2013;8:e55396.

213. Okajima K, Uchiba M. The anti-inflammatory properties of antithrombin III: new therapeutic implications. *Semin Thromb Hemost* 1998;24:27-32.

214. Roemisch J, Gray E, Hoffman JN, Wiedermann CJ. Antithrombin: a new look at the actions of a serine protease inhibitor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002;13:657-70.
215. Ceriello A, Giugliano D, Dello Russo P, Tirelli A, Passariello N, Sgambato S. Metabolic control may alter antithrombin III activity but not its plasma concentration in diabetes: a possible role for nonenzymatic glycosylation. *Diabetes Care* 1986;9:32-5.
216. Patrassi GM, Pichinenna R, Vettor R, Cappellato G, Coccarielli D, Girolami A. Antithrombin III activity and concentration in diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 1985;54:415-7.
217. Martínez Laborda S, Salazar García-Blanco M, Rodríguez Rigual M, Baldellou Vázquez A. Valores plasmáticos de homocisteína total en niños con diabetes mellitus tipo 1. Factores condicionantes. *An Pediatr (Barc)* 2008;68:264-8.
218. The homocysteine studies collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015-22.
219. Nygard O, Nordrehaug J, Refsum H, Ueland PM, Farstad M et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337:230-6.
220. Cheng Z, Jiang X, Pansuria M, Fang P, Mai J, Mallilankaraman K et al. Hyperhomocysteinemia and hyperglycemia induce and potentiate endothelial dysfunction via μ -calpain activation. *Diabetes* 2014.
221. Kannel WB, Wolf O, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 1987;258:1183-6.
222. Fibrinogen Studies Collaboration DH, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005;294:1799-809.

223. Gracheva SA, Biragova M, Glazunova AM, Klefortova II, Shamkhalova MSh, Dzhavelidze et al. Risk factors for and prognostic value of multifocal atherosclerosis in patients with diabetes mellitus. *Ter Arkh* 2014;86:20-6.
224. Azad N, Agrawal L, Emanuele NV, Klein R, Bahn GD, McCarren M et al. Association of PAI-1 and Fibrinogen With Diabetic Retinopathy in the Veterans Affairs Diabetes Trial (VADT). *Diabetes Care* 2014;37:501-6.
225. Wiman B, Chmielewska J, Rånby M. Inactivation of tissue plasminogen activator in plasma. Demonstration of a complex with a new rapid inhibitor. *J Biol Chem* 1984;259:3644-7.
226. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M et al. Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. *News Physiol Sci* 2002;17:56-61.
227. Juhan-Vague I, Thompson S, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1865-73.
228. Juhan-Vague I, Alessi M, Morange PE. Hypofibrinolysis and increased PAI-1 are linked to atherothrombosis via insulin resistance and obesity. *Ann Med* 2000;32:78-84.
229. Adly AA, Elbarbary NS, Ismail EAR, Hassan SR. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in children and adolescents With Type 1 Diabetes Mellitus: relation to diabetic micro-vascular complications and carotid intima media thickness. *J Diabetes Complications* 2014;28:340-7.
230. Furlanos S, Harrison L, Colman PG. The accelerator hypothesis and increasing incidence of type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008;15:321-5.

231. Liu LL, Lawrence J, Davis C, Liese AD, Pettitt DJ, Pihoker C et al. Prevalence of overweight and obesity in youth with diabetes in USA: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatr Diabetes* 2010;11:4-11.
232. Mangge H, Schauenstein K, Stroedter L, Griesl A, Maerz W, Borkenstein M. Low grade inflammation in juvenile obesity and type 1 diabetes associated with early signs of atherosclerosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004;112:435-9.
233. Snell-Bergeon JK, Nancy AW, Elizabeth JM-D, Liese Ad, Marcovina SM, D'Agostino RB Jr et al. Inflammatory Markers Are Increased in Youth with Type 1 Diabetes: The SEARCH Case-Control Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2868-76.
234. Rosa JS, Flores RL, Oliver SR, Pontello AM, Zaldivar FP, Galassetti PR. Sustained IL-1 α , IL-4, and IL-6 elevations following correction of hyperglycemia in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2008;9:9-16.
235. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
236. Sabath-Silva F. Leptina. *Rev Invest Clin* 2002;54:161-5.
237. Bodary PF, Westrick R, Wickenheiser KJ, Shen Y, Eitzman DT. Effect of leptin on arterial thrombosis following vascular injury in mice. *JAMA* 2002;287:1706-9.
238. Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, Durant R, Hanesse B, de Talance N et al. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1030-5.
239. Koutkia P, Canavan B, Johnson ML, DePaoli A, Grinspoon S. Characterization of leptin pulse dynamics and relationship to fat mass, growth hormone, cortisol and insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:372-9.

240. Koc E, Ustundag G, Aliefendioglu D, Ergenekon E, Bideci A, Atalay Y. Serum leptin levels and their relationship to tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in neonatal sepsis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16:1283-7.
241. Considine RV, Sinha M, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.
242. Demerath EW, Towne B, Wisemandle W, Blangero J, Chumlea WC, Siervogel RM. Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23.
243. Butte NF, Hopkinson J, Nicolson MA. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:585-9.
244. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3424-7.
245. Mark AL, Correia M, Rahmouni K, Haynes WG. Selective leptin resistance: a new concept in leptin physiology with cardiovascular implications. *J Hypertens* 2002;20:1245-50.
246. Kamoda T, Saitoh H, Nakahara S, Izumi I, Hirano T, Matsui A. Serum leptin and insulin concentrations in prepubertal lean, obese and insulin-dependent diabetes mellitus children. *Clin Endocrinol* 1998;49:385-9.
247. Luna R, García-Mayor R, Lage M, Andrade MA, Barreiro J, Pombo M et al. High serum leptin levels in children with type 1 diabetes mellitus: contribution of age, BMI, pubertal development and metabolic status. *Clin Endocrinol* 1999;51:603-10.
248. Hanaki K, Becker D, Arslanian SA. Leptin before and after insulin therapy in children with new-onset type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1524-6.

249. Ahmed ML, Ong K, Watts AP, Morrell DJ, Preece MA, Dunger DB. Elevated leptin levels are associated with excess gain in fat mass in girls but not boys, with type 1 diabetes: longitudinal study during adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1188-93.
250. Celi F, Bini V, Papi F, Santilli E, Castellani MS, Ferretti A et al. Circulating adipocytokines in non-diabetic and Type 1 diabetic children: relationship to insulin therapy, glycaemic control and pubertal development. *Diabet Med* 2006;23:660-5.
251. Pham MN, Kolb H, Mandrup-Poulsen T, Battelino T, Ludvigsson J, Pozzilli P et al. Serum adipokines as biomarkers of beta-cell function in patients with type 1 diabetes: positive association with leptin and resistin and negative association with adiponectin. *Diabetes Metab Res Rev* 2013;29:166-70.
252. Wang MY, Chen L, Clark GO, Lee Y, Stevens RD, Ilkayeva OR et al. Leptin therapy in insulin-deficient type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:4813-9.
253. Wasserfall CH, Mathews CE, Schatz DA. The use of leptin as treatment for type 1 diabetes mellitus: counterpoint. *Pediatr Diabetes* 2012;13:74-6.
254. Kruger AJ, Yang C, Lipson KL, Pino SC, Leif JH, Hogan CM et al. Leptin treatment confers clinical benefit at multiple stages of virally induced type 1 diabetes in BB rats. *J Autoimmun* 2011;44:137-48.
255. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995;270:26746-9.
256. Gil-Campos M, Cañete R, Gil A. Adiponectin, the missing link in insulin resistance and obesity. *Clin Nutr* 2004;23:963-74.

257. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003;423:762-9.
258. Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, Chudek J, Kokot F, Matsuzawa Y. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2003;16:72-5.
259. Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology* 2004;40:46-54.
260. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002;277:25863-6.
261. Pischon T, Girman C, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004;291:1730-7.
262. Sherief EM, Amr N, Adly AA, Gharib H. Do children with type 1 diabetes have a relation between adiponectin level and vascular complications? *Pediatr Endocrinol Rev* 2014;11:383-9.
263. Morales A, Wasserfall C, Brusko T, Carter C, Schatz D, Silverstein J et al. Adiponectin and leptin concentrations may aid in discriminating disease forms in children and adolescents with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:2010-4.
264. Cartier A, Lemieux I, Alméras N, Tremblay A, Bergeron J, Després JP. Visceral obesity and plasma glucose-insulin homeostasis: contributions of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1931-8.
265. Romano M, Pomilio M, Vigneri S, Falco A, Chiesa PL, Chiarelli F et al. Endothelial perturbation in children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24:1674-8.

266. Van der Poll T, van Deventer S, Pasterkamp G, van Mourik JA, Buller HR, ten Cate JW. Tumor necrosis factor induces von Willebrand factor release in healthy humans. *Thromb Haemost* 1992;67:623-6.
267. Kershaw EE, Flier J. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548-56.
268. Erbağci AB, Tarakçioğlu M, Coşkun Y, Sivasli E, Sibel Namiduru E. Mediators of inflammation in children with type I diabetes mellitus: cytokines in type I diabetic children. *Clin Biochem* 2001;34:645-50.
269. Oliveira EB, Gotshlich E, Liu T. Primary structure of human C-reactive protein. *J Biol Chem* 1979;254:489-502.
270. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996;312:1061-5.
271. Oliveira AC, Oliveira A, Almeida MS, Silva AM, Adan L, Ladeia AM. Alanine aminotransferase and high sensitivity c-reactive protein: correlates of cardiovascular risk factors in youth. *J Pediatr* 2008;152:337-42.
272. Schölin A, Siegbahn A, Lind L, Berne C, Sundkvist G, Björk E et al. CRP and IL-6 concentrations are associated with poor glycemic control despite preserved beta cell function during the first year after diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20:205-10.
273. The EURODIAB Prospective Complications Study. Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Giorgino F, Ebeling P. Vascular Risk Factors and Markers of Endothelial Function as Determinants of Inflammatory Markers in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:2165-73.
274. Tanner JM, Whitehouse R. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity and stage of puberty. *Arch Dis Child* 1976;51:170-9.
275. Carrascosa A, Fernández J, Ferrández A, López-Siguero JP, López D, Sánchez E y grupo colaborador español. *Estudios españoles de crecimiento* 2010.

276. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114: Supplement 2:555-76.
277. Roldán Martín MB, Escobar-Morreale H, Alonso Blanco M, Barrio Castellanos R. Pubertal growth, final height and weight gain in girls diagnosed with IDDM during pre-pubertal period. *An Pediatr (Barc)* 1999;51:493-8.
278. Beck RW, Tamborlane WV, Bergenstal RM, Miller KM, DuBose SN, Hall CA. The T1D Exchange Clinic Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:4383-9.
279. Maahs D, Hermann J, DuBose S, Miller KM, Heidtmann B, DiMeglio LA et al. Contrasting the clinical care and outcomes of 2,622 children with type 1 diabetes less than 6 years of age in the United States T1D Exchange and German/Austrian DPV registries. *Diabetologia* 2014;57:1578-85.
280. García Serrano E, González Ildefonso P, Posadilla Andrés J, Martín Alonso M, Prieto Matos P, Prieto Veiga J. Bomba de infusión continua de insulina y niveles de hemoglobina glicosilada. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2013;4 191.
281. Ayse C, Jason T, Luke Z, Nguyen NT, Wood MA, Kleis L et al. Basal and Bolus Insulin Requirements in Children, Adolescents, and Young Adults with Type 1 Diabetes Mellitus on Continuous Subcutaneous Insulin Infusion (CSII): Effects of Age and Puberty. *Endocr Pract* 2013;19:805-11.
282. Hsu CC, Chang HY, Huang MC, Hwang SJ, Yang YC, Tai TY et al. Association Between Insulin Resistance and Development of Microalbuminuria in Type 2 Diabetes: A prospective cohort study. *Diabetes Care* 2011;34:982-7.

283. Leslie RD, Kolb H, Schloot NC, Buzzetti R, Mauricio D, De Leiva A et al. Diabetes classification: grey zones, sound and smoke: Action LADA 1. *Diabetes Metab Res Rev* 2008;24:511-9.
284. Quinn M, Fleischman A, Rosner B, Nigrin DJ, Wolfsdorf JI. Characteristics at diagnosis of type 1 diabetes in children younger than 6 years. *J Pediatr* 2006;148:366-71.
285. Cepedano Dans A, Barreiro Conde J, Pombo Arias M y grupo de diabetes infantil de Galicia. Incidencia y características clínicas al manifestarse la diabetes mellitus tipo 1 en niños de Galicia (España, 2001-2002). *An Pediatr (Barc)* 2005;62:123-7.
286. Golmayo Gaztelu L, Ros Pérez P; Alonso Blanco, M; Martín-Frías, M; Barrio Castellanos, R. Factores de riesgo cardiovascular en niños y adolescentes españoles con diabetes mellitus tipo 1: evolución a lo largo de 9 años. *An Pediatr (Barc)* 2015;83:40-6.
287. Bjornstad P, Snell-Bergeon JK, McFann K, Wadwa RP, Rewers M, Rivard CJ et al. Serum uric acid and insulin sensitivity in adolescents and adults with and without type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2014;28:298-304.
288. Martín-Frías M, Álvarez MA, Yelmo R, Alonso M, Barrio R. Evaluación de la transición desde la Unidad de Diabetes Pediátrica a la de Adultos en adolescentes con diabetes mellitus tipo 1. *An Pediatr (Barc)* 2014;81:389-92.
289. Jacobs RL, House J, Brosnan ME, Brosnan JT. Effects of streptozotocin-induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat. *Diabetes* 1998;47:1967-70.
290. Chiang EP, Wang Y, Chen WW, Tang FY. Effects of insulin and glucose on cellular metabolic fluxes in homocysteine transsulfuration, remethylation, S-adenosylmethionine synthesis, and global deoxyribonucleic acid methylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1017-25.

Bibliografia

291. Hofmann MA, Kohl B, Zumbach M, Borcea V. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in IDDM. *Diabetes Care* 1998;21:841-7.
292. Buysschaert M, Jamart J, Dramais AS, Wallemacq P, Hermans MP. Micro and macrovascular complications and hyperhomocysteinaemia in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab* 2001;27:655-9.

ANEXOS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

ANEXO I: Certificado de aptitud de la IBSAL.



Expediente N°:

LA COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE SALAMANCA

INFORMA

La solicitud del proyecto de investigación con título "ALTERACIONES EN LA COAGULACION Y FACTORES PROINFLAMATORIOS EN EL CONTEXTO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN NIÑOS" presentada por el D./Dª. Montserrat Martín Alonso en la convocatoria de Proyectos de investigación en Biomedicina GRS 2014 de Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, está bien diseñada y es viable en todos sus términos.

El equipo investigador tiene amplia experiencia en estos estudios. Los resultados pueden tener aplicabilidad y utilidad práctica en el área de salud.

El Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca avala el proyecto y se compromete a su seguimiento en los términos señalados en la memoria.

Y para que así conste, se firma el presente informe en Salamanca a 20 de febrero de 2014.

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE
INVESTIGACIÓN DEL IBSAL

Fdo.: Dr. Rogelio González Sarmiento

ANEXO II: Consentimiento informado de los pacientes.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PADRE/TUTOR

Médico que informa

Persona a quien informa

DNI

Relación con el paciente

Declaro bajo mi responsabilidad estar informado y haber comprendido que (nombre del paciente)

1. Ha sido incluido y acepto su participación en el proyecto de investigación clínica y epidemiológica

"Alteraciones en la coagulación y factores proinflamatorios en el contexto de la diabetes mellitus tipo 1" para aumentar el conocimiento sobre posibles alteraciones clínicas y/o analíticas relacionadas con el hecho de padecer diabetes mellitus tipo 1.

En este estudio se lleva a cabo una exploración física completa y extracción de muestra sanguínea para realización de pruebas de laboratorio para valorar la existencia de dichas alteraciones.

Así mismo, en la misma extracción se obtiene muestra sanguínea para su almacenamiento en el biobanco del Hospital Universitario de Salamanca para un posible estudio genético posterior.

1. Se me ha entregado copia del consentimiento informado fechado y firmado.
2. Se me han explicado las características y objetivo del estudio y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra almacenada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
4. Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas manteniendo una estrecha confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.
- 5.

Doy consentimiento para utilizar estas muestras para el proceso diagnóstico, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI

NO

Doy consentimiento para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI

NO

Doy consentimiento para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI

NO

Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente,

Si deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente

No deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente

Si deseo conocer el resultado en relación a otras patologías

No deseo conocer el resultado en relación a otras patologías

Lugar y fecha

Firma del médico

Firma del paciente
o persona responsable

CONSENTIMIENTO INFORMADO MENOR MADURO

Se solicita tu participación en este Proyecto de Investigación, cuyo objeto principal es el de profundizar en el conocimiento de las posibles alteraciones presentes por padecer diabetes mellitus tipo 1.

Este estudio será realizado por pediatras del Hospital Universitario de Salamanca y participarán unos 100 niños que deseen incorporarse a este Proyecto de Investigación.

Es posible que tu participación en este estudio no obtenga un beneficio directo e inmediato. Sin embargo, la identificación de posibles factores relacionados con tener diabetes mellitus tipo 1 podría beneficiar en el futuro a otros pacientes.

Tu participación en el estudio es totalmente voluntaria y si tú decides no participar recibirás todos los cuidados médicos que precises y la relación con el equipo médico que te atiende no va a verse afectada.

Si tú decides participar, se te realizará una historia clínica y una exploración física detallada, una extracción sanguínea para realización de pruebas de laboratorio y un tubo extra que se almacenará para un posible estudio genético posterior. El estudio genético se realiza estudiando el ADN. El ADN es un elemento que está presente en todas tus células porque lo has recibido de tus padres y lleva un código en forma de "genes" que determina tus características físicas personales, como el color de ojo, de piel, etc. Es diferente entre unas personas y otras y nos puede explicar porque algunas personas desarrollan unas enfermedades y otras no.

La toma de muestras de sangre puede provocarte una pequeña sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y te puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección, que desaparece en pocos días. Más raramente puedes sufrir un leve mareo.

Se te pedirá tu consentimiento para que con tu sangre se hagan dos cosas:

1. Que aceptes que se analicen algunas sustancias que pueden intervenir en el desarrollo de complicaciones asociadas a la diabetes como: problemas en los ojos, riñones, corazón...
2. Que aceptes que se conserve una muestra de tu ADN para posibles estudios más adelante.

Puedes aceptar el punto uno sólo, los dos puntos o ninguno de los dos.

Si tú aceptas sólo el punto uno, tu muestra se destruirá tras realizar el estudio analítico.

Si aceptas ambos puntos la muestra se conservará para posibles estudios posteriores.

Si cambias de opinión después de autorizar la recogida de datos clínicos y de dar tu muestra sanguínea puedes pedir que se destruyan tus datos y tu muestra sanguínea.

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas manteniendo una estrecha confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

Médico que informa

Persona a quien informa

DNI

Declaro bajo mi responsabilidad estar informado y haber comprendido que

1. He sido incluido y acepto mi participación en el proyecto de investigación clínica y epidemiológica **"Alteraciones en la coagulación y factores proinflamatorios en el contexto de la diabetes mellitus tipo 1"** para aumentar el conocimiento sobre mi enfermedad y sus posibles complicaciones.

En este estudio se lleva a cabo una exploración física completa y extracción de muestra sanguínea para realización de pruebas de laboratorio para valorar la existencia de dichas alteraciones.

Así mismo, en la misma extracción se obtiene muestra sanguínea para su almacenamiento en el biobanco del Hospital Universitario de Salamanca para un posible estudio genético posterior.

1. Se me ha entregado copia del consentimiento informado fechado y firmado.
2. Se me han explicado las características y objetivo del estudio y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra almacenada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
- 4.

Doy consentimiento para utilizar estas muestras para el proceso diagnóstico, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI NO

Doy consentimiento para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI NO

Doy consentimiento para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes

SI NO

Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente,

- Sí deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente
- No deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente
- Sí deseo conocer el resultado en relación a otras patologías
- No deseo conocer el resultado en relación a otras patologías

Lugar y fecha

Firma del médico

Firma del paciente
o persona responsable

ANEXO III: Datos comparativos según nivel de HbA1c y tiempo de evolución.

Corte de HbA1c	TAS en DS en los de HbA1c Menor de	TAS en DS en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	-0,07 ± 0,63	0,45 ± 0,93	0,03
7%	0,12 ± 0,78	0,52 ± 0,95	0,04
7,5%	0,12 ± 0,78	0,52 ± 0,95	0,04
8%	0,26 ± 0,86	0,87 ± 1,03	0,04

Comparación de los niveles de TAS en DS según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	TAD en DS en los de HbA1c Menor de	TAD en DS en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	0,42 ± 0,50	0,57 ± 0,69	0,37
7%	0,42 ± 0,51	0,65 ± 0,73	0,11
7,5%	0,40 ± 0,53	0,89 ± 0,79	<0,01
8%	0,47 ± 0,60	1,05 ± 0,84	<0,01

Comparación de los niveles de TAD en DS según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Evolución (años)	Creatinina (mg/dL) en los de Menor de	Creatinina (mg/dL) en los de Mayor de	p
1	0,47 ± 0,11	0,59 ± 0,14	<0,01
2	0,48 ± 0,13	0,59 ± 0,13	<0,01
3	0,50 ± 0,13	0,60 ± 0,13	<0,01
4	0,51 ± 0,12	0,61 ± 0,14	<0,01
5	0,52 ± 0,13	0,62 ± 0,13	<0,01
6	0,52 ± 0,14	0,65 ± 0,11	<0,01
7	0,54 ± 0,14	0,65 ± 0,12	<0,01

Comparación de los niveles de creatinina según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	AST (UI/L) en los de Menor de	AST (UI/L) en los de Mayor de	p
1	24,67 ± 4,89	20,46 ± 5,66	0,02
2	23,36 ± 5,09	20,11 ± 5,73	0,02
3	23,06 ± 4,99	19,7 ± 5,82	<0,01
4	23 ± 5,78	19,17 ± 5,07	<0,01
5	22,62 ± 5,68	18,97 ± 5,16	<0,01
6	22,35 ± 5,52	18,28 ± 5,21	<0,01
7	22,18 ± 5,58	17,29 ± 4,54	<0,01

Comparación de los niveles de AST según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	Colesterol (mg/dL) en los de Menor de	Colesterol (mg/dL) en los de Mayor de	p
1	152,42 ± 20,84	172,22 ± 30,26	0,03
2	166,76 ± 34,83	170,64 ± 27,9	0,58
3	167,97 ± 32,92	170,57 ± 27,96	0,69
4	172,30 ± 35,11	166,98 ± 24,05	0,40
5	171,48 ± 33,72	167,08 ± 24,22	0,49
6	171,53 ± 31,88	165,45 ± 25,16	0,37
7	172,32 ± 30,56	160,57 ± 26,13	0,12

Comparación de los niveles de colesterol total según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	HDLc (mg/dL) en los de Menor de	HDLc (mg/dL) en los de Mayor de	p
1	57,67 ± 17,33	68,79 ± 15,65	0,03
2	60,2 ± 19,77	70,07 ± 13,81	<0,01
3	61,45 ± 17,59	71,12 ± 14,19	<0,01
4	65,67 ± 19,74	68,73 ± 12,26	0,38
5	66,51 ± 19,04	68,23 ± 12,03	0,63
6	67,48 ± 17,76	66,84 ± 12,9	0,86
7	67,58 ± 17,34	66,3 ± 12,42	0,75

Comparación de los niveles de HDL colesterol según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	HbA1c (%) en los de Menor de	HbA1c (%) en los de Mayor de	p
1	6,67 ± 0,79	7,27 ± 0,81	0,02
2	7 ± 1,13	7,26 ± 0,68	0,2
3	7,03 ± 1,04	7,29 ± 0,65	0,16
4	7,05 ± 0,97	7,32 ± 0,66	0,13
5	7,1 ± 0,92	7,3 ± 0,7	0,26
6	7,16 ± 0,93	7,24 ± 0,6	0,65
7	7,15 ± 0,92	7,31 ± 0,47	0,44

Comparación de los niveles de HbA1c según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	Péptido C (ng/mL) en los de Menor de	Péptido C (ng/mL) en los de Mayor de	p
1	1,11 (0,22 – 2,4)	0,03 (0,02 – 0,11)	<0,01
2	0,24 (0,05 – 1,15)	0,02 (0,02 – 0,04)	<0,01
3	0,22 (0,04 – 0,88)	0,02 (0,02 – 0,04)	<0,01
4	0,15 (0,03 – 0,8)	0,02 (0,02 – 0,04)	<0,01
5	0,15 (0,03 – 0,68)	0,02 (0,02 – 0,03)	<0,01
6	0,11 (0,02 – 0,36)	0,02 (0,02 – 0,03)	<0,01
7	0,04 (0,02 – 0,17)	0,02 (0,02 – 0,02)	<0,01

Comparación de los niveles de péptido C según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Corte de HbA1c	TNF α (pg/mL) en los de HbA1c Menor	TNF α (pg/mL) en los de HbA1c Mayor	p
6,5%	10,3 (9,5 – 11,1)	9 (7,6 – 11,6)	0,25
7%	9,75 (8,18 – 11,1)	9,25 (7,6 – 12)	0,83
7,5%	9,3 (7,6 – 10,9)	11,5 (8,95 – 14,2)	0,01
8%	9,5 (7,65 – 11,1)	12,3 (10,25 – 20,75)	0,01

Comparación de los niveles de TNF α según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	PCR us (mg/dL) en los de HbA1c Menor	PCR us (mg/dL) en los de HbA1c Mayor	p
6,5%	0,033 (0,024 – 0,071)	0,042 (0,029 – 0,106)	0,34
7%	0,035 (0,025 – 0,092)	0,045 (0,029 – 0,104)	0,57
7,5%	0,037 (0,02 – 0,074)	0,077 (0,034 – 0,225)	0,01
8%	0,038 (0,024 – 0,079)	0,101 (0,035 – 0,339)	0,04

Comparación de los niveles de PCR us según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Evolución (años)	FVW Ac (%) en los de Menor de	FVW Ac (%) en los de Mayor de	p
1	89,98 ± 24,57	108,87 ± 33,3	0,22
2	99,4 ± 31,27	109,84 ± 33,36	0,26
3	102,84 ± 36,03	110 ± 31,48	0,38
4	104,4 ± 35,94	110,01 ± 30,85	0,47
5	103,91 ± 34,22	111,22 ± 31,8	0,34
6	101,93 ± 34,71	117,15 ± 27,96	0,05
7	104,37 ± 35,15	116,55 ± 24,8	0,16

Comparación de los niveles de Factor von Willebrand Ac según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	FVW Ag (%) en los de Menor de	FVW Ag (%) en los de Mayor de	p
1	88,14 ± 31,3	117,24 ± 39,96	0,12
2	103,38 ± 30,99	118,53 ± 41,68	0,18
3	107,22 ± 38,74	119,34 ± 40,3	0,22
4	111,06 ± 39,5	118,45 ± 40,43	0,43
5	109,69 ± 37,62	120,76 ± 41,84	0,23
6	107,59 ± 38,17	128,24 ± 40,16	0,03
7	110,81 ± 40,23	127,65 ± 37,35	0,11

Comparación de los niveles de Factor von Willebrand Ag según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	FVIII C (%) en los de Menor de	FVIII C (%) en los de Mayor de	p
1	96,48 ± 28,01	114,67 ± 28	0,17
2	111 ± 29,45	114,12 ± 28,06	0,70
3	111,78 ± 30,96	114,29 ± 26,99	0,72
4	113,86 ± 29,13	113,15 ± 27,81	0,92
5	111,36 ± 27,95	115,49 ± 28,64	0,53
6	108,18 ± 28,92	122,31 ± 24,96	0,03
7	108,63 ± 28,44	126,71 ± 23,33	0,01

Comparación de los niveles de FVIII C según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Evolución (años)	HCN (mcmol/L) en los de Menor de	HCN (mcmol/L) en los de Mayor de	p
2	6,8 (5,6 – 12)	7,68 (6,65 – 10,6)	0,67
3	6,8 (5,65 – 11,15)	7,78 (6,83 – 11)	0,38
4	7 (5,75 – 10,8)	7,9 (6,83 – 11)	0,29
5	6,9 (5,85 – 11,05)	8 (6,95 – 10,8)	0,3
6	7,17 (5,82 – 10,25)	8 (7 – 11,45)	0,12
7	7 (5,86 – 10,1)	9,15 (7,08 – 11,8)	0,03

Comparación de los niveles de homocisteína según el tiempo de evolución fuera mayor o menor de 2, 3, 4, 5, 6 y 7 años.

Corte de HbA1c	FVW Ac (%) en los de HbA1c Menor de	FVW Ac (%) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	86,03 ± 32,84	113,01 ± 31,01	<0,01
7%	97,87 ± 33,28	115,27 ± 31,05	0,02
7,5%	104,85 ± 33,53	115,76 ± 30,79	0,22
8%	107,54 ± 32,3	108,29 ± 42,19	0,96

Comparación de los niveles de Factor von Willebrand Ac según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	FVW Ag (%) en los de HbA1c Menor de	FVW Ag (%) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	90,21 ± 38,71	121,57 ± 38,01	<0,01
7%	103,29 ± 38,1	124,73 ± 39,23	0,02
7,5%	112,61 ± 39,4	123,24 ± 41,55	0,32
8%	116,04 ± 39,33	108,09 ± 48,32	0,62

Comparación de los niveles de Factor von Willebrand Ag según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	FVIII C (%) en los de HbA1c Menor de	FVIII C (%) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	99,81 ± 29,63	116,87 ± 27	0,03
7%	105,84 ± 26,95	119,44 ± 28	0,04
7,5%	111,57 ± 27,59	119,01 ± 29,96	0,32
8%	114,73 ± 27,49	101,11 ± 34,17	0,23

Comparación de los niveles de FVIII C según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	ATIII (%) en los de HbA1c Menor de	ATIII (%) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	92,65 ± 7,47	96,52 ± 10,24	0,15
7%	94,11 ± 7,7	97,12 ± 11,26	0,17
7,5%	95,37 ± 8,67	96,79 ± 13,11	0,59
8%	94,92 ± 9,27	104 ± 12,23	0,02

Comparación de los niveles de antitrombina III según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	HCN (mcmol/L) en los de HbA1c Menor	HCN (mcmol/L) en los de HbA1c Mayor	p
6,5%	6 (5,09 – 7)	7,9 (6,8 – 11,23)	0,03
7%	7 (5,78 – 12)	7,8 (6,9 – 10,2)	0,40
7,5%	7,05 (6 – 10,52)	9,06 (7,5 – 11,3)	0,29
8%	7,38 (6 – 10,23)	11,3 (7,5 – 13,4)	0,07

Comparación de los niveles de homocisteína según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

Corte de HbA1c	PAI-1 (UI) en los de HbA1c Menor de	PAI-1 (UI) en los de HbA1c Mayor de	p
6,5%	15,8 (10,35 – 23,15)	21,59 (16,23 – 31,05)	0,02
7%	16,4 (13,6 – 25)	23,6 (16,73 – 32,18)	0,04
7,5%	19,55 (15,35 – 28,28)	21,17 (11,9 – 31,75)	0,97
8%	19,1 (13,85 – 27,35)	31,75 (27,7 – 40,6)	0,02

Comparación de los niveles de PAI según la HbA1c fuera mayor o menor de 6,5; 7; 7,5 y 8%.

ÍNDICE DE FIGURAS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

Mapa de incidencia de DM1 por comunidades autónomas	29
Incidencia de DM1 entre 0 y 14 años en el mundo	31
Contribución al proceso patogénico que subyace en DM1	32
Historia natural de la DM1	34
Estudios de ligamiento en DM1	39
Funciones atribuibles a regiones no HLA asociadas con DM1	42
Generalidades de daño tisular inducido por hiperglucemia	76
Incremento de la vía de los polioles inducida por hiperglucemia	77
Incremento de productos finales de glicación avanzada	78
Activación de la PKC inducida por hiperglucemia	79
Activación de flujo hacia la vía de hexosaminas por hiperglucemia	80
Cadena transportadora de electrones y superóxidos	81
Sobreproducción mitocondrial de superóxidos	83
Especies reactivas de oxígeno activando PARP	84
Mecanismo integrador del daño celular por hiperglucemia	84
Actividad trombogénica del Factor von Willebrand	91
Niveles de acción de la ATIII en la cascada de la coagulación	93
Efectos trombogénicos de la homocisteína	95
Papel del factor inhibidor del activador del plasminógeno	97
Correlación entre edad y dosis/kg de insulina según pubertad	134
Correlación entre necesidades de insulina y HbA1c	136
Edad al debut de la DM1 según sexo	138
Distribución al debut de la DM1 según sexo y grupo de edad	139
Correlación entre pH y edad al debut	141
Distribución al debut de la DM1 según pH y grupo de edad	142
Evolución de la talla en DS desde el debut	144
Evolución del IMC en DS desde el debut	144
Comparación de los niveles de ácido úrico entre casos y controles	146

Índice de figuras

Comparación de niveles de AST entre ambas muestras	147
Correlación entre edad y niveles de AST entre ambas muestras	148
Correlación entre péptido C y tiempo de evolución de la DM1	150
Correlación entre niveles de AST y HbA1c	151
Correlación entre niveles de péptido C y HbA1c	152
Comparación de niveles de TNF α entre grupos según HbA1c mayor o menor de 8%	156
Correlación entre niveles de TNF α y HbA1c	156
Comparación de niveles de PCR us entre grupos según HbA1c mayor o menor de 8%	157
Correlación entre niveles de leptina y dosis total de insulina	158
Comparación niveles de homocisteína entre casos y controles	160
Comparación niveles de FvW entre sexos	161
Comparación niveles de ATIII entre grupos según HbA1c mayor o menor de 8%	163
Correlación entre niveles de ATIII y HbA1c	164
Comparación niveles de PAI entre grupos según HbA1c mayor o menor de 7%	165
Correlación entre niveles de PAI y HbA1c	165

ÍNDICE DE TABLAS



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

Riesgo de DM1 en población general y en familiares de pacientes	39
Insulinas de acción rápida	58
Insulinas de acción lenta	59
Preparados comerciales disponibles en España	60
Últimos modelos de ISCI disponibles en España	62
Estudios de prevención en DM1	74
Características de las muestras de diabéticos y controles	131
Características de niños puberales de ambos grupos	132
Características de niños prepuberales de ambos grupos	133
Comparación de características generales de niños tratado con ISCI y con MDI	135
Comparación de dosis de insulina por kg según grupos de HbA1c mayor o menor de 6,5, 7, 7,5 y 8%	136
Comparación de necesidades de insulina según presencia o no de pubertad al debut	140
Marcadores de diabetes en la muestra	143
Comparación entre datos bioquímicos en ambas muestras	145
Comparación de niveles de AST según grupos de HbA1c mayor o menor de 6,5, 7, 7,5 y 8%	151
Comparación de parámetros proinflamatorios entre ambas muestras	153
Comparación de parámetros de coagulación y fibrinólisis entre ambas muestras	159