

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS



**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR
EN DIABETES MELLITUS TIPO 1
EN LA EDAD PEDIÁTRICA**

TESIS DOCTORAL

MARÍA MARTÍN FRÍAS

2012

**DEPARTAMENTO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**



**EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR
EN DIABETES MELLITUS TIPO 1
EN LA EDAD PEDIÁTRICA**

**Trabajo de investigación realizado por María Martín Frías
para optar al grado de Doctor en Medicina**

DIRECTORAS DE LA TESIS DOCTORAL

Doctora Raquel Barrio Castellanos

Doctora Adelaida Lamas Ferreiro

INFORME DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS DOCTORAL

Las Dras **Dña. Raquel Barrio Castellanos** y **Dña. Adelaida Lamas Ferreiro**, Doctoras en Medicina y Cirugía,

CERTIFICAN: Que **Dña. María Martín Frías**, Licenciada en Medicina y Cirugía y especialista en Pediatría, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo "EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN LA EDAD PEDIÁTRICA" para su presentación como Tesis Doctoral en el Departamento de Especialidades Médicas de la Universidad de Alcalá de Madrid.

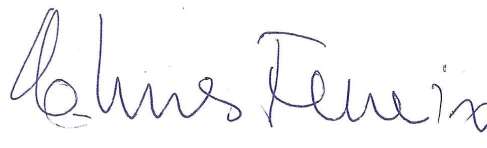
Consideramos que el estudio cumple las características de relevancia científica, originalidad, metodología de investigación y correcto análisis estadístico para poder optar al grado de TESIS DOCTORAL.

Y que para así conste a los efectos oportunos firmamos el presente certificado como DIRECTORAS de esta Tesis Doctoral.

Las Directoras de la Tesis



Dra. Raquel Barrio Castellanos
DNI 12183508V



Dra. Adelaida Lamas Ferreiro
DNI 12375209J

Madrid a 31 de Enero de 2012

D. José Luis Bardasano Rubio, Catedrático de la Universidad de Alcalá y Director del Departamento de Especialidades Médicas

INFORMA

Que la Tesis Doctoral titulada "*Evaluación de la función pulmonar en diabetes mellitus tipo 1 en la edad pediátrica*", presentada por D^a. María Martín Frías, cumple con todos los requisitos científicos y metodológicos para ser defendida ante un Tribunal.

Alcalá de Henares, 01 de febrero de 2012

716
José Luis Bardasano Rubio



A David, Andrea, Mara y ...

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis directoras de tesis la ayuda recibida, sin ellas ni hubiera sido posible este trabajo.

Gracias *Raquel Barrio*, por apostar por mí en éste y otros proyectos, por tu profesionalidad y entrega, tu trabajo incansable, por todo lo que me enseñas día a día. No puedo expresar suficientemente mi admiración por ti, eres un ejemplo para mí.

Gracias *Adelaida Ferreiro*, por tu tiempo dedicado a este trabajo, por todas tus ideas y lo que me has enseñado de función pulmonar, por tus ánimos y por tu positividad ante el trabajo.

Gracias a *Sergio García Rull* y *Joaquín Picher*, imprescindibles para la realización de este trabajo, por todas las explicaciones dadas, su profesionalidad y ganas de colaborar, siempre disponibles en el laboratorio de función pulmonar para mis dudas y peticiones.

Gracias a *Olga* y *M^a Jesús*, porque siempre me han recibido con una sonrisa y han prestado su ayuda en el laboratorio de función pulmonar.

Gracias a *Ana*, por todo lo que me ha enseñado y su gran ayuda en el análisis estadístico y por su disponibilidad en todo momento para solucionar mis dudas.

Gracias *Milagros Alonso*, por lo que me has enseñado desde residente y por tu preocupación constante por mí desde el punto de vista profesional y personal en este tiempo.

Gracias *Rafael Yturriaga*, por tu apoyo para continuar mi formación y camino en la Endocrinología Pediátrica.

Gracias a mis amigos *Bárbara* (prima y amiga), *M^a Carmen* y *Gonzalo*, porque estuvieron pendientes de cada paso y nueva noticia relacionados con la elaboración de la tesis, por el apoyo recibido, sus ánimos y el cariño mostrado. Y gracias en mayúsculas a mi amiga *Elvira* por lo anteriormente dicho y más.

Gracias a mi tía *Teo*, ejemplo para mí de mujer emprendedora y luchadora.

Gracias *Oscar*, mi “hermanito”, por tu apoyo incondicional y creer en mí.

Gracias a *Lorenzo* y *Margarita*, mis padres. Ellos han sido parte fundamental de este trabajo, contribuyendo siempre a que pudiese trabajar, estudiar y desarrollarme como persona y madre. Sabéis que os quiero y que, aunque no os lo pueda agradecer y demostrar lo suficiente, nunca olvidaré lo que estáis haciendo por mí. Gracias por estar siempre ahí, sin condiciones.

Es imposible nombrar a todos los que han contribuido de una u otra forma en el desarrollo de este trabajo.

Y por último y fundamental, gracias *David*, mi marido, por entender la necesidad que tenía de sacar tiempo para poder elaborar la tesis, aunque eso significase quitarte tiempo a ti, y por tu apoyo incondicional desde el primer día. Y gracias *Andrea* y *Mara*, mis hijas, habéis sido la fuerza que me ha sostenido en los momentos difíciles, gracias por vuestras sonrisas. Gracias. A vosotros tres os dedico esta tesis.

“La Medicina es un amante exigente pero fiel, generoso y sincero”

Abraham Verghese, en *Hijos del Ancho Mundo*

ÍNDICE

ABREVIATURAS	Pag. 9
ABSTRACT	Pag. 11
INTRODUCCIÓN	Pag. 13
- Diabetes mellitus tipo 1	Pag. 14
1. Epidemiología	Pag. 14
2. Fisiopatología	Pag. 15
3. Manifestaciones clínicas y complicaciones crónicas	Pag. 21
3.1. Microangiopatía diabética	Pag. 22
4. Control y tratamiento	Pag. 29
- El pulmón	Pag. 33
1. Funciones pulmonares	Pag. 34
1.1. Control ventilatorio	Pag. 34
1.2. Función mecánica ventilatoria	Pag. 34
1.3. Función microvascular	Pag. 35
2. Estudio de la función pulmonar	Pag. 38
2.1. Espirometría	Pag. 38
2.2. Pletismografía corporal	Pag. 41
2.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag. 43
2.4. Determinación de óxido nítrico exhalado	Pag. 44
- Función pulmonar en pacientes con diabetes mellitus tipo 1	Pag. 46
1. Afectación del control ventilatorio	Pag. 49
2. Afectación de la mecánica pulmonar	Pag. 50
3. Afectación de la función microvascular	Pag. 54
4. Inflamación pulmonar	Pag. 55
5. Estudios longitudinales de función pulmonar en diabetes mellitus tipo 1	Pag. 55
- Función pulmonar y diabetes mellitus tipo 1 en edad pediátrica	Pag. 58
- Relación entre la alteración de la función pulmonar y diferentes variables de la diabetes mellitus tipo 1	Pag. 63
1. Función pulmonar y tiempo de evolución	Pag. 63
2. Función pulmonar y grado de control metabólico	Pag. 64
3. Función pulmonar y complicaciones crónicas vasculares	Pag. 64
- Función pulmonar en diabetes mellitus: implicaciones clínicas y terapéuticas	Pag. 67

OBJETIVOS	Pag.	72
PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS	Pag.	74
- DISEÑO DEL ESTUDIO	Pag.	75
- SUJETOS DEL ESTUDIO	Pag.	76
1. Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1		
2. Grupo control	Pag.	78
- VARIABLES Y PROCEDIMIENTOS	Pag.	80
1. Recogida de datos sociodemográficos y clínicos	Pag.	80
2. Determinaciones analíticas	Pag.	82
2.1. Valoración del grado de control metabólico	Pag.	82
2.2. Otros datos analíticos	Pag.	83
3. Estudio de la función pulmonar	Pag.	85
3.1. Espirometría forzada	Pag.	86
3.2. Pletismografía corporal	Pag.	87
3.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag.	88
3.4. Determinación de óxido nítrico exhalado	Pag.	88
4. Análisis de los datos	Pag.	95
5. Consideraciones éticas y legales	Pag.	96
RESULTADOS	Pag.	98
1. Características generales de la población estudiada	Pag.	99
1.1. Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1	Pag.	99
1.2. Grupo control	Pag.	108
1.3. Comparación entre ambos grupos	Pag.	109
2. Estudio de la función pulmonar	Pag.	109
2.1. COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO CON DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EL GRUPO CONTROL	Pag.	110
2.1.1. Espirometría forzada	Pag.	110
2.1.2. Pletismografía corporal	Pag.	110
2.1.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag.	111
2.1.4. Óxido nítrico exhalado	Pag.	111
2.2. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 SOBRE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR	Pag.	115
2.1.1. Espirometría forzada	Pag.	115
2.1.2. Pletismografía corporal	Pag.	115

2.1.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag. 116
2.1.4. Óxido nítrico exhalado	Pag. 116
2.3. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL GRADO DE CONTROL METABÓLICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 SOBRE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR	Pag. 119
2.1.1. Espirometría forzada	Pag. 119
2.1.2. Pletismografía corporal	Pag. 119
2.1.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag. 120
2.1.4. Óxido nítrico exhalado	Pag. 120
2.4. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR SEGÚN LOS DISTINTOS MÉTODOS UTILIZADOS PARA SU AJUSTE EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1: CORRECCIÓN AJUSTADA SOBRE EL VALOR PREDICHO SEGÚN PARÁMETROS KNUDSON O CORRECCIÓN AJUSTADA POR ESTADIO PUBERAL SEGÚN PARÁMETROS DE ROSENTHAL	Pag. 123
2.5. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN EN EL GRUPO DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1	Pag. 125
2.6. MODELOS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE EN EL GRUPO DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1	Pag. 128
DISCUSIÓN	Pag. 129
1. DIABETES MELLITUS TIPO 1	
1.1. Discusión sobre los resultados del estudio de la espirometría forzada	Pag. 133
1.2. Discusión sobre los resultados del estudio de la pletismografía corporal	Pag. 139
1.3. Discusión sobre los resultados del estudio de la capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag. 143
1.4. Discusión sobre los resultados del estudio del óxido nítrico exhalado	Pag. 146
1.5. Discusión sobre los resultados del estudio en función del grado de control metabólico de diabetes mellitus tipo 1	Pag. 147
1.6. Discusión sobre los resultados de los estudios de correlación y de regresión múltiple	Pag. 150
2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	Pag. 151
CONCLUSIONES	Pag. 153

ANEXOS	Pag. 156
Anexo 1. Hoja de recogida de datos epidemiológicos y clínicos	Pag. 157
Anexo 2. Hoja de recogida de datos analíticos y complicaciones	Pag. 158
Anexo 3. Protocolo de realización de la espirometría forzada	Pag. 159
Anexo 4. Protocolo de realización de la pletismografía corporal	Pag. 160
Anexo 5. Protocolo de realización de la capacidad de difusión de monóxido de carbono	Pag. 161
Anexo 6. Protocolo de realización de la medición de óxido nítrico exhalado	Pag. 162
Anexo 7. Hoja de recogida de resultados del estudio de función pulmonar	Pag. 163
Anexo 8. Modelos de consentimiento informado para el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1	Pag. 164
Anexo 9. Modelos de consentimiento informado para el grupo de controles	Pag. 167
Anexo 10. Información sobre las pruebas a realizar en el estudio de función pulmonar	Pag. 170
BIBLIOGRAFIA	Pag. 173

ABREVIATURAS

DM1: Diabetes Mellitus tipo 1
HLA: complejo mayor de histocompatibilidad
SNC: sistema nervioso central
HbA1c: hemoglobina glicosilada
O₂: oxígeno
NO: óxido nítrico
PCK: proteína kinasa C
NADH/NAD⁺: ratio dinucleótico de nicotinamida adenina forma reducida/forma oxidada
VEGF: factor de crecimiento endotelial
PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas
TGFβ: factor transformador de crecimiento β
CTGF: factor de crecimiento de tejido conectivo
TNF-α: factor de necrosis tumoral α
DCCT: Diabetes Control and Complications Trial
ISPAD: International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
TA: tensión arterial
EDIC: Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
CO₂: dióxido de carbono o anhídrido carbónico
FP: función pulmonar
Vt: volumen corriente o tidal
VC: capacidad vital
IRV: volumen de reserva inspiratorio
IVC: capacidad vital inspiratoria
ERV: volumen de reserva espiratorio
EVC: capacidad vital espiratoria
FVC: capacidad vital forzada
FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FEF: flujo espiratorio forzado
MEF: flujo espiratorio máximo
PEF: pico de flujo espiratorio
PIF: pico de flujo inspiratorio
TLC: capacidad pulmonar total
RV: volumen residual
FRC: capacidad residual funcional
ITGV: volumen de gas intratorácico
Raw: resistencia de las vías aéreas
sRaw: resistencia específica de las vías aéreas
Gaw: conductancia de las vía aéreas
sGaw: conductancia específica de las vía aéreas
CO: monóxido de carbono
DLCO: capacidad de difusión pulmonar de monóxido de carbono
VA: volumen alveolar
NOe: óxido nítrico exhalado

Cols: colaboradores
IMC: índice de masa corporal
CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica
DE: desviaciones estándar
U/kg/d: unidades/kilogramo/día
Kg/m²: kilogramo/metro cuadrado
cm: centímetros
mmHg: milímetros de mercurio
mcg: microgramo
min: minuto
%: porcentaje
GOT: glutámico oxalacético transaminasa
GPT: glutámico pirúvico transaminasa
GGT: gamma glutamil transpeptidasa
U: unidad
L: litro
LDL: lipoproteína de baja densidad
HDL: lipoproteína de alta densidad
mg/dL: miligramos/decilitro
ECSC: European Coal and Steel Community
P: percentil
kPa*seg/L: kilopascal multiplicado por segundo/litro
mmol/min/kPa/L: milimol/ minuto/ kilopascal/litro
ERS: European Respiratory Society
ppb: partes por billón
nL/L: nanolitro/litro
ATS: American Thoracic Society
rpm: respiraciones por minuto
H₂O/L/seg: agua/litro/segundo
 χ^2 : prueba de Chi Cuadrado
n: número de pacientes
p: significación estadística

ABSTRACT

BACKGROUND. Chronic hyperglycemia of diabetes mellitus type 1 (DM1) involves multiple systems associated with continuing damage, dysfunction and failure of various organs. Complications of DM1 are mainly a consequence of microvascular damage. The diabetic retinopathy, nephropathy and neuropathy complications are well known. Certain studies had suggested that the lung is functionally involved in patient with DM1 in the course of the disease, but with contradictory results. The mechanism by which impaired glycemic control may lead a reduction in lung function is uncertain. The present study was designed to determine the lung function in children and adolescent with DM1 and to establish if there is any relationship with diabetic factors and complications.

PATIENTS AND METHODS. A cross-sectional study design was undertaken in 100 diabetic patients and 77 match controls. Age of study population ranged 8 to 18 years (mean 12.8 ± 2.6 , 55.9% females) and none had evidence of lung, allergic, cardiac, neuromuscular, connective tissue or obesity disorders. All were non-smokers. Age, sex, pubertal stage and anthropometric data were analyzed. Pulmonary function was studied by spirometry [forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in 1 second (FEV1) and FEV1/FVC ratio], plethysmography [total lung capacity (TLC), residual volume (RV), RV/TLC ratio, airway resistance (Raw) and intrathoracic volume gas (ITGV)], diffusing capacity for carbon monoxide [total transfer of carbon monoxide (TLCO), alveolar ventilation (VA) and TLCO/VA ratio] and exhaled nitric oxide (NO_e). Values were expressed as percentage of predicted value and SD-score corrected by height and pubertal stage, according with *Rosenthal*

et al (1993). In diabetic patients, duration of diabetes, metabolic control [mean HbA1c (%) in the previous year], insulin dose, diabetic complications and biochemical data were analyzed. Data were analyzed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 15.0. Statistical study included: bivariant analysis by χ^2 test (categoric variables) and t-student test (quantitative variables), ANOVA and correlation to assess difference. Significance level was $p < 0.05$. The Ethical Committee of Clinic Investigation of Ramón y Cajal Hospital approved the study. All parents/tutors/patients completed and signed a consent form.

CONCLUSIONS. This study suggests that the lung is functionally involved in children with DM1 early in the course of the disease and the role of the pubertal stage in the evaluation of lung function. On the other hand, this study emphasizes the importance of optimum glycemic control in order to prevent long-term diabetic complication. Performance of pulmonary function test must be followed up in time when reaching adulthood to establish long-term implications of what seem to be subtle initial alterations of pulmonary function in diabetic children.

INTRODUCCIÓN

DIABETES MELLITUS TIPO 1

La Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) es, junto con la obesidad, la alteración metabólica más frecuente en la edad pediátrica, y una de las principales causas de enfermedad crónica en este grupo de edad (1). Se caracteriza por la existencia de hiperglucemia crónica como consecuencia del déficit de insulina.

1.- Epidemiología

Numerosos estudios epidemiológicos han permitido conocer la incidencia de la DM1 en distintas poblaciones españolas, oscilando ésta entre 10-38/100.000 habitantes/año en los menores de 15 años (2,3,4,5,6,7,8). En la Comunidad Autónoma de Madrid la incidencia media estimada entre 1997-2005 fue de 15,9/100.000 habitantes/año (con un intervalo de confianza del 95% entre 15,0-16,8/100.000) (9). El estudio EURODIAB (10) ha demostrado que la incidencia de DM1 está aumentando en Europa en los últimos años, datos que también han sido constatados en parte de la población española (5,6,9), con una predicción de doblarse la misma en el año 2020 (11). El 75% de los casos de DM1 se diagnostican antes de los 18 años de edad, con un pico de mayor frecuencia en el momento de la pubertad seguido por otro pico entre los 5 y 9 años (1). Los estudios recientes, además de demostrar el aumento de la incidencia de esta enfermedad, han observado una disminución de la edad en el momento del diagnóstico, con un incremento llamativo en niños por debajo de los 5 años (10,12,13), sin existir diferencias entre sexos. En nuestro país, la prevalencia de DM1 en pacientes por debajo de los 15 años es del 0,3%, según los resultados de la Encuesta Nacional de Salud elaborada por el Ministerio de Sanidad y Consumo (14).

2.- Fisiopatología

La DM1 es una enfermedad crónica debida a un proceso autoinmune órgano-específico mediado por células T. La activación de esta autoinmunidad conlleva la destrucción de las células β productoras de insulina de los islotes de Langerhans del páncreas y la consecuente alteración del “termostato de glucosa”. La DM1 se desarrolla como consecuencia de la combinación de una predisposición genética y de numerosos, y en parte desconocidos, factores ambientales y eventos estocásticos (15,16). La disfunción inmune provoca una sobre-expresión de células T CD4⁺, células T CD8⁺ autorreactivas y linfocitos B productores de autoanticuerpos, además de la activación del sistema inmune innato, lo que determina la destrucción de las células β productoras de insulina. Las células T autorreactivas juegan un papel fundamental en el inicio y en la progresión de la enfermedad y, presumiblemente, son activadas en los nódulos linfáticos pancreáticos debido al gran recambio de las células β de los islotes secundario a la presentación de antígenos; el evento molecular que inicia esta pérdida de tolerancia todavía es desconocido (Figura 1a). En situaciones normales existe un equilibrio entre las células T efectoras y las células T reguladoras, teniendo éstas últimas un papel fundamental en la supresión de la respuesta autoinmune y en el control de los mecanismos de inflamación y del estrés oxidativo (17). En el caso de la DM1, la pérdida de este equilibrio en la regulación de la inmunidad favorece el inicio y la progresión de la enfermedad. La presencia de autoanticuerpos específicos contra el tejido pancreático y/o la insulina en el suero de los pacientes con DM1 es clave en el diagnóstico de la enfermedad.

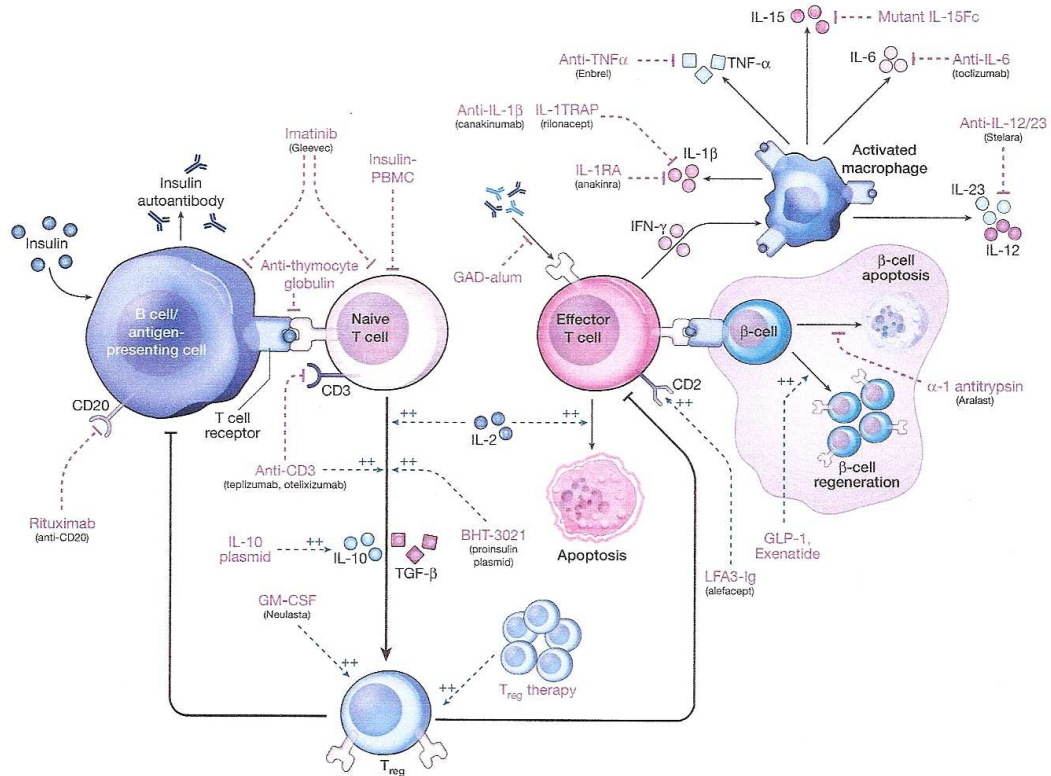
A nivel genético, se han identificado 26 loci relacionados con la DM1 en el genoma humano (18). De éstos, 19 están implicados en la regulación inmune del organismo, localizándose algunos de ellos en la región del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) situada en el brazo corto del cromosoma 6 (19). Ello explica la existencia de una predisposición genética a padecer la enfermedad y, también, la asociación de la DM1 con otras enfermedades autoinmunes. Pero, aunque los factores genéticos son importantes, el hecho de que menos del 10% de la población de sujetos genéticamente susceptibles progrese a enfermedad clínica, va a favor de la existencia de otros factores desencadenantes para iniciar y mantener la destrucción de las células β (15). Poco a poco se ha ido conociendo el efecto que el medio ambiente tiene en el desarrollo y progresión de la DM1. Así, se han postulado factores alimentarios (relacionados con la ingesta precoz de proteínas vacunas o ácidos grasos omega-3), la exposición solar (papel mediado por la vitamina D), factores infecciosos (como procesos virales) e, incluso, la hipótesis de la higiene (20,21,22,23,24,25,26) como factores favorecedores de la aparición de la enfermedad. En resumen, sobre una predisposición genética, la pérdida de la autorregulación y del fino equilibrio del sistema inmune, junto a la influencia de diversos factores ambientales, tienen como consecuencia el inicio y progresión de los procesos y alteraciones que darán lugar a la DM1 (Figura 1b).

Anatomopatológicamente, en el inicio del desarrollo de la enfermedad se produce una inflamación en el páncreas con “peri-insulitis” local debida a la presencia de células T patogénicas alrededor de los islotes pancreáticos. Posteriormente, se va extendiendo dicha inflamación de forma progresiva hasta

producir una “insulitis” dentro de los islotes. Finalmente, se producirá una destrucción de dichos islotes con la consecuente pérdida de funcionalidad de los mismos. En las fases iniciales del proceso, las distintas etapas patogénicas coexisten hasta llegar a la fase final de destrucción generalizada (Figura 2).

En este sentido, desde el punto de vista clínico, la DM1 tiene un periodo prodrómico subclínico, de una duración variable (entre meses y años), que se caracteriza por la pérdida progresiva y selectiva de las células β de los islotes de Langerhans sin repercusión sintomática. Cuando esta pérdida celular es superior al 80% se inicia la fase sintomática y característica de la enfermedad, con aparición de poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso en los días o semanas previos a su diagnóstico.

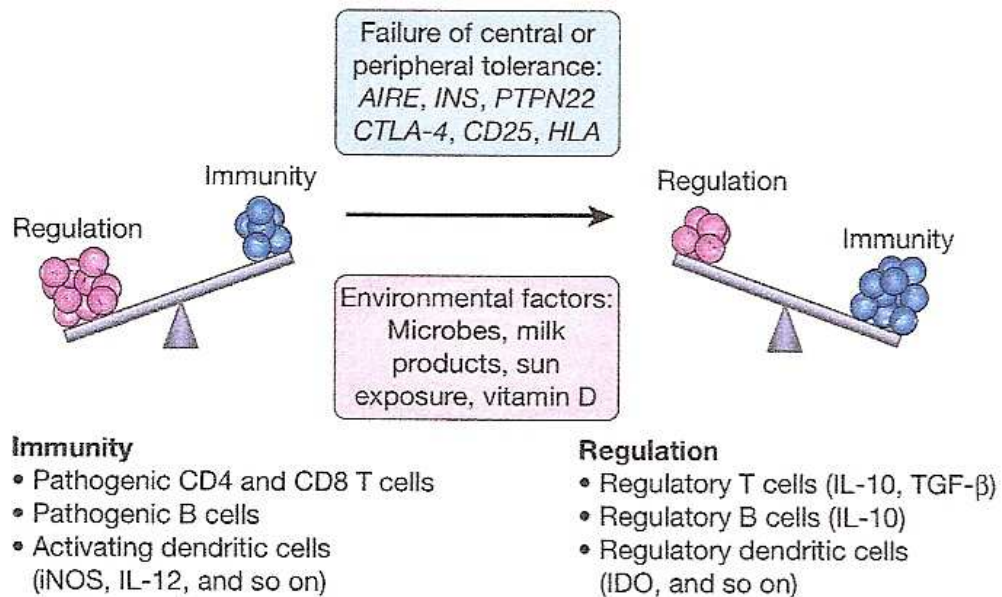
Figura 1a.



Bluestone JA, Nature 2010

Esquema general de la inmunopatogénesis de la DM1. La figura muestra la implicación del sistema inmune en la patogénesis de la DM1, así como las dianas de una posible intervención inmune terapéutica que actúe sobre las células efectoras, la presentación de antígenos y la vía reguladora

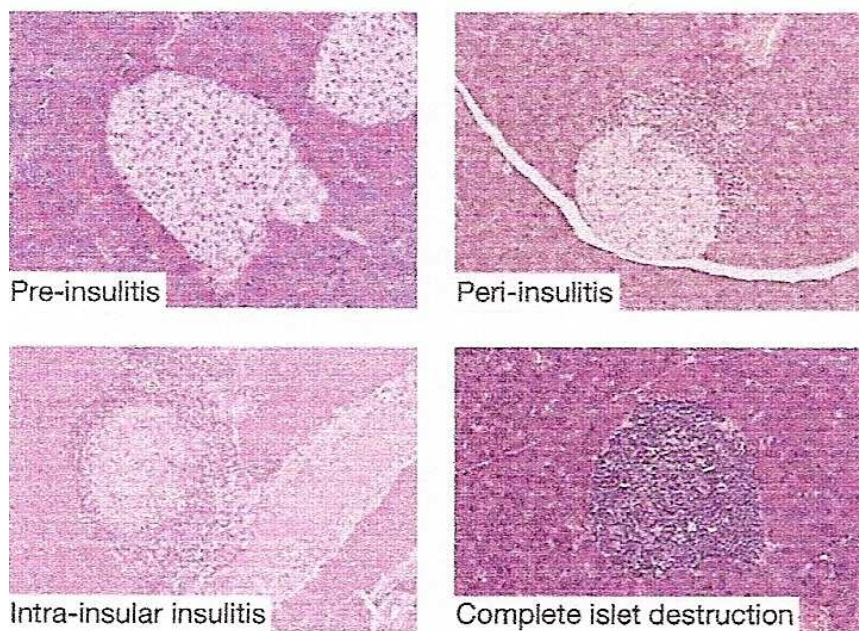
Figura 1b.



Bluestone JA, Nature 2010

Equilibrio fisiopatogénico. El esquema ilustra el fino balance entre sistema inmune (factores patogénicos y reguladores), factores genéticos y medioambientales. Cuando se rompe el equilibrio, se inicia la patogénesis de la DM1

Figura 2.



Bluestone JA. Nature

Estudio anatomopatológico de DM1 (ratón NOD). Se observa la infiltración linfocitaria de los islotes de Langerhans y la progresión de la misma desde la fase de pre-insulinitis hasta la destrucción completa del islote, con fases en las que coexisten diferentes estadios de la destrucción de los islotes

3. Manifestaciones clínicas y complicaciones crónicas

Clínicamente, la DM1 se caracteriza por la existencia de hiperglucemia secundaria al déficit de insulina. Este déficit altera el funcionamiento celular al impedir la entrada de glucosa en el interior de la misma, siendo este sustrato uno de los componentes energéticos del metabolismo celular y el principal para el sistema nervioso central (SCN).

La hiperglucemia mantenida a lo largo de la evolución de la DM1 es determinante para la aparición y desarrollo de las complicaciones crónicas de la enfermedad (27). La afectación más importante se produce a nivel vascular, dando lugar a alteraciones tanto micro como macrovasculares, que conllevan una gran morbi-mortalidad.

Entre las complicaciones crónicas de la DM1, la microangiopatía diabética (expresada como retinopatía, nefropatía y neuropatía) es la de aparición más precoz, generalmente tras los primeros 10 años de la enfermedad. Es posible prevenir y retrasar su aparición manteniendo un adecuado control metabólico de la enfermedad (27). Las alteraciones macrovasculares (expresadas como enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular y enfermedad vascular periférica) aparecen más tardíamente, tras 15 ó 20 años de evolución, teniendo una mayor tasa de mortalidad; también el buen control glucémico influye positivamente retrasando su aparición y progresión (28).

En la mayoría de los estudios, la incidencia de las complicaciones crónicas, incluso tras larga evolución de la DM1, es baja durante la infancia y adolescencia (29), aunque algunos trabajos las han descrito hasta en un 50% de los pacientes con

DM1 infantil tras 12 años de evolución de la enfermedad (30,31). Un control glucémico inadecuado, incluso en los primeros 5 años de la enfermedad, puede acelerar la aparición de las complicaciones. Por otro lado, una edad muy joven en el momento del diagnóstico parece retrasar el desarrollo de las complicaciones microvasculares (32).

En pacientes con DM1 y mal control metabólico se ha observado, a lo largo de la evolución de la enfermedad, la aparición de otras complicaciones crónicas, en principio menos graves, que afectan a otros órganos y sistemas. Es el caso de las complicaciones derivadas de la afectación de la piel (como la necrobiosis lipóidica, la dermatopatía diabética y la atrofia del tejido adiposo), las del tejido conectivo-conjuntivo (como las contracturas articulares, la esclerodermia y la limitación de la movilidad articular) (33) o las que aparecen a nivel muscular (34).

La afectación de otros órganos y sistemas, como el respiratorio y el pulmón, como su órgano principal, ha sido poco investigada y los pocos estudios existentes muestran resultados contradictorios.

3.1. Microangiopatía diabética

La DM1 determina un elevado riesgo vascular, tanto en los pequeños como en los grandes vasos del organismo. Las llamadas complicaciones microvasculares son consecuencia de la afectación específica de los pequeños vasos en diversos territorios del organismo y se consideran específicas de la enfermedad. La microangiopatía diabética incluye característicamente la retinopatía, la nefropatía y la neuropatía periférica o autonómica. Junto a ellas, en los últimos años, se ha constatado la afectación de los microvasos cardiacos, cuya alteración origina

cambios en la contractilidad miocárdica que tienen como resultado la disfunción ventricular diastólica (35). La posible afectación de la microvascularización de otros órganos, como el pulmón, en el momento actual queda aún por definir y confirmar.

A nivel **fisiopatológico**, la exposición prolongada a la hiperglucemia es el principal factor patogénico del desarrollo y progresión de la microangiopatía diabética (36,37,38,39,40). La hiperglucemia actúa modificando diferentes aspectos de la fisiología celular mediante sus efectos sobre macromoléculas y vías metabólicas clave, lo que produce diversas alteraciones bioquímicas independientes que producen daño vascular. Existe una relación lineal y estrecha entre la hiperglucemia crónica, la inducción de estrés oxidativo y las complicaciones microvasculares. La relación entre dichas situaciones se considera secundaria a la interacción de distintos mecanismos, entre los que se encuentran los siguientes (41,42):

- ***Glicosilación avanzada no enzimática de proteínas.*** Descrita ya hace más de 2 décadas como uno de los principales mecanismos causantes de las complicaciones de la DM1 (43). Se trata de un proceso fisiológico que, en el caso de la DM1, está patológicamente acelerado debido a la hiperglucemia mantenida. Las altas concentraciones de glucosa presentes aceleran la formación espontánea de uniones entre glucosa y moléculas que contienen “*grupos-amina*”, como son las proteínas de vida media larga y los ácidos nucleicos. Inicialmente, la creación de estos productos de la glicosilación no enzimática de las proteínas puede ser revertida, dando lugar a productos poco reactivos, de los que es un claro ejemplo la hemoglobina glicosilada (HbA1c). Sin embargo, cuando la hiperglucemia se

mantiene en el tiempo, los compuestos interaccionan entre sí con el consiguiente aumento de las uniones “*glucosa-grupos amina*”; estos nuevos compuestos se transforman en moléculas más complejas, denominadas “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*”, que son irreversibles y difíciles de eliminar. Esta fase determina una alteración de la estructura, de las propiedades físico-químicas y de la función de las proteínas, tanto extra como intracelulares, incidiendo sobre todo en proteínas como el colágeno (tipo I y IV), la elastina, la laminina, la albúmina y las lipoproteínas. Así, en pacientes con DM1, se han detectado niveles elevados de los “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*” de las proteínas acumulados en diferentes órganos y sistemas: a nivel ocular (en los vasos retinianos), en el riñón (en los capilares glomerulares), en el tejido cutáneo, en las arterias y en el torrente sanguíneo.

Estos nuevos compuestos alteran la actividad enzimática habitual de las moléculas afectadas, interfieren en su reconocimiento por el receptor y favorecen el aumento de la producción de radicales libres de oxígeno (O₂) que inducen estrés oxidativo. Además, interaccionan y se unen a los componentes de la membrana basal celular interfiriendo con la adecuada función de la misma, lo que ocasiona una pérdida de elasticidad y alteración de la permeabilidad. También aumentan la expresión de citoquinas, de factores de crecimiento y la actividad pro-coagulante, además de perturbar la señalización vascular debido a la disminución y alteración de la función del óxido nítrico (NO). Toda esta cascada de acontecimientos genera un estado pro-inflamatorio que se ve incrementado por el hecho de que, en la DM1, la

degradación de los “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*” está reducida (44,45,46).

- ***Exceso de glucosa intracelular en la vía de la hexosamina.*** La hiperglucemia que aparece en la DM1 aumenta la presencia de glucosa dentro de la vía de la hexosamina, produciendo aumento de glucosamina-6-fosfato y de N-acetilglucosamina. Esto modifica la actividad y función de las proteínas nucleares y las citosólicas (como la sintetasa de NO endotelial) y también de factores de transcripción, con la consecuente alteración de la función de los mismos y el incremento del estado pro-inflamatorio (47,48).

- ***Activación de la proteína kinasa C (PKC).*** La PKC se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos de los mamíferos, encargándose de la fosforilación de numerosas proteínas celulares. En la DM1, como consecuencia de la hiperglucemia, el ratio dinucleótico de nicotinamida adenina forma reducida/forma oxidada (NADH/NAD⁺) se encuentra aumentado a nivel intracelular. Además, la fijación de los “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*” a sus receptores de membrana activa secundariamente la PKC. El aumento de la actividad de esta enzima, a nivel de los tejidos vasculares de distintos órganos, lleva consigo la alteración de la expresión de factores de crecimiento, hormonas y canales iónicos, la alteración de la transducción de señales intracelulares y la disfunción endotelial. Como resultado, se produce un descenso del flujo sanguíneo y un aumento de la permeabilidad vascular, además del engrosamiento de la membrana basal por el incremento de la matriz extracelular (49).

- **Activación de la cascada de la coagulación.** En la DM1, la cascada de la coagulación aparece activada a distintos niveles: aumento del factor VII y de la trombina; aumento de la formación de fibrina y descenso de la actividad de la antitrombina III. Se considera que es la hiperglucemia crónica la que mantiene activada la cascada de la coagulación mediante el incremento de la glicosilación no enzimática de las proteínas con la formación de los “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*”, la alteración de la síntesis de heparina sulfato y el aumento del estrés oxidativo. Durante el curso de la enfermedad, la pérdida de las propiedades anticoagulantes del endotelio también aumenta la activación de la coagulación y, además, el incremento del estrés oxidativo y los radicales libres de O₂ promueven una mayor agregación plaquetaria (40,50,51).

- **Aumento de factores de crecimiento.** La hiperglucemia crónica produce una alteración de la regulación de las señales moleculares extracelulares que determina el aumento en la expresión de factores de crecimiento. Por ejemplo, en la retinopatía diabética el aumento de la expresión del factor de crecimiento endotelial (VEGF) induce neovascularización e incrementa la permeabilidad vascular. En la nefropatía diabética, el incremento de la expresión del factor transformador de crecimiento β (TGFB) favorece el aumento de las proteínas de matriz y reduce la lisis de las mismas, estando mediada esta acción por la activación de PCK. En el glomérulo de estos pacientes se detecta factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) que no se detecta en sujetos sanos (40).

- **Cambios en los factores endoteliales.** La hiperglucemia da lugar a la disminución de la producción de sustancias vasodilatadoras (como el NO y la

prostaciclina) y al aumento de sustancias vasoconstrictoras (como la endotelina-1). Estos cambios alteran señales extracelulares y la capacidad de relajación vascular (52,53,54).

- **Incremento del estrés oxidativo.** Se postula que este proceso es el que precipita y promueve el resto de los mecanismos fisiopatológicos anteriormente descritos y es, como ya se ha mencionado, una de las principales vías en la patogénesis de la microangiopatía diabética (39). La hiperglucemia promueve la formación de radicales libres de O₂, siendo uno de los principales el anión superóxido. Estos radicales libres de O₂ inducen daño vascular endotelial directo por medio de la peroxidación de los lípidos de membrana y favorecen la degradación del NO. El estrés oxidativo, inducido por la hiperglucemia, activa el resto de los mecanismos implicados en las complicaciones vasculares diabéticas, activando la PKC, la formación de los “*productos finales de la glicosilación avanzada no enzimática*” y aumentando la formación de polioles y de hexosamina, lo que causa daño y disfunción endotelial, además de otros daños en distintas líneas celulares, como las plaquetas (55,56).

- **Incremento de la inflamación.** Finalmente, y debido a la activación e interacción de los mecanismos antes descritos, en el lecho microvascular de los enfermos con DM1 existe un ambiente pro-inflamatorio que promueve el daño vascular y que, de forma secundaria, causará la microangiopatía diabética. Se ha descrito una infiltración y activación de leucocitos, una sobre expresión y secreción de moléculas de adhesión celular y de citokinas por parte de numerosas células (entre ellas monocitos y adipocitos) y un aumento de los niveles de factores de crecimiento,

como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y el VEGF. El gran incremento de la cascada pro-inflamatoria induce el daño microvascular (37).

En resumen, la hiperglucemia presente en la DM1 provoca una alteración metabólica que va a tener consecuencias a nivel intracelular, con el aumento del estrés oxidativo y la alteración de señales de transducción, y a nivel extracelular, con la alteración de señales moleculares extracelulares y el incremento del ambiente inflamatorio vascular. Todo ello provoca cambios en la morfología y en la función vascular que tendrán como resultado final la microangiopatía diabética. El control glucémico y el tiempo de evolución de la enfermedad son los dos factores más importantes en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la diabetes. También se acepta, la existencia de una predisposición genética en la patogénesis de las mismas, lo que explicaría la gran heterogeneidad clínica en su expresión (57).

Desde el punto de vista **anatomopatológico**, en la microangiopatía diabética las alteraciones de proteínas como el colágeno, la elastina y la laminina del tejido conjuntivo y de la matriz extracelular, distorsionan y engrosan la membrana basal de los pequeños vasos, ocasionando la pérdida de la elasticidad de la pared y una permeabilidad anómala de la misma. En algunas de las complicaciones diabéticas se produce la proliferación de células endoteliales (como en la retinopatía proliferativa) y en otras, al contrario, una pérdida de las mismas (como en la nefropatía).

Pero, junto a las complicaciones vasculares derivadas de la microangiopatía diabética, también se han detectado cambios patológicos en tejidos no vasculares, fundamentalmente en el tejido conectivo, con cambios de las membranas basales y engrosamiento de las mismas, así como el aumento de la matriz extracelular (41).

Así, a nivel anatomopatológico en la DM1 no sólo se afecta el tejido vascular, sino que también se altera el tejido conectivo. Esta última afectación se va a extender a órganos que, en mayor o medida, están compuestos por dicho tejido, como ocurre con la piel y las articulaciones (33).

Teniendo en cuenta las alteraciones antes descritas, el pulmón, al tener una amplia red vascular y estar compuesto por abundante tejido conectivo, podría ser diana de las complicaciones crónicas de la DM1.

4. Control y tratamiento

En el seguimiento y control de los pacientes pediátricos con DM1 se recomienda realizar revisiones periódicas, cada 2-3 meses, con el objetivo de alcanzar un adecuado control metabólico que evite el desarrollo de complicaciones tanto agudas como crónicas. En cada revisión, además de la valoración de la monitorización diaria de la glucemia capilar y las circunstancias que influyen en la misma, es importante la determinación de la HbA1c. El estudio Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) (27) demostró que el riesgo de desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares en la DM1 está estrechamente relacionado con el grado de control metabólico de la enfermedad, determinado por la medición seriada de la HbA1c. Como se ha comentado previamente, la glicosilación exagerada de las proteínas en la diabetes tiene gran importancia en la patogenia de las complicaciones. En este sentido, Rahbar (58) identificó esta nueva variante de hemoglobina, la HbA1c, que se detectaba en mayores cantidades en pacientes con diabetes y que es el resultado de la reacción espontánea de la hemoglobina con la glucosa y, en menor medida, con otros azúcares. En condiciones de hiperglucemia

mantenida, la hemoglobina y otras proteínas sufren una mayor glicosilación, lo que constituye el fundamento de su utilización como “sensor” de los niveles de glucosa en sangre a lo largo de un periodo de tiempo determinado. Como la concentración de hemoglobina en sangre es prácticamente constante, y su vida media es de unos 3 meses, su tasa de glicosilación en un momento dado (es decir, el % de HbA1c) será proporcional a la concentración media de glucosa durante dicho periodo. Los objetivos glucémicos óptimos son discutidos, pero deben de estar lo más próximos posible a la normalidad, sin incrementar el riesgo de hipoglucemia, y deben de ser siempre individualizados. Los objetivos propugnados por el DCCT incluyen una HbA1c inferior al 7%. En la edad pediátrica, la International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) aconseja unos objetivos de control más laxos en función de la edad de los pacientes, aceptando en los niños más pequeños valores de HbA1c de hasta 8-8,5% (59).

Además, en el seguimiento de los pacientes con DM1 se debe realizar, anualmente, el cribado sistemático de las complicaciones crónicas, aunque los enfermos no presenten sintomatología específica. En este sentido, se debe realizar estudio oftalmológico, mediante fondo de ojo, para descartar retinopatía (cada 5 años en el caso de pacientes prepuberales y anual después del inicio puberal), estudio nefrológico para evaluar la función renal y microalbuminuria y estudio neurológico, mediante exploración física específica, para descartar la presencia de neuropatía periférica diabética. A ello, se debe añadir el estudio del perfil lipídico así como el cribado de otras enfermedades autoinmunes asociadas a la DM1. Igualmente, se debe

tomar en cada revisión la tensión arterial (TA) y descartar la presencia de otras complicaciones como la limitación de la movilidad articular.

Con respecto al tratamiento de la DM1, la única opción terapéutica válida en el momento actual es la administración exógena subcutánea de insulina, junto con un control de la ingesta de hidratos de carbono en la dieta, la auto-monitorización de la glucemia capilar y la realización de ejercicio físico de manera controlada. El estudio DCCT puso de manifiesto que el tratamiento intensivo de la DM1, consistente en la administración de múltiples dosis de insulina al día, el control frecuente de la glucemia capilar la educación diabetológica y el contacto frecuente con el equipo diabetológico, era efectivo para controlar la glucemia y determinante para el retraso en la aparición y progresión de las complicaciones crónicas de la enfermedad tanto en adultos (27) como en adolescentes (60). A los 4 años de la publicación de los resultados del DCCT, el estudio Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) demostró, tanto en adultos (61) como en adolescentes (62), que esta protección frente a las complicaciones crónicas se prolonga en el tiempo y que el mal control de la diabetes durante los primeros años de la enfermedad favorece el desarrollo de las mismas, incluso aunque se consiga más tarde mejorar el control metabólico. Posteriormente, el seguimiento de esta cohorte de pacientes ha seguido demostrando el efecto beneficioso y duradero de la terapia intensiva en la DM1 sobre el desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares más de una década después, lo que se conoce como “memoria metabólica”, (63,64,65). Todo ello apoya y reafirma la necesidad de un tratamiento intensivo de la DM1 desde el inicio de la enfermedad, tanto en la edad adulta como en la adolescencia,

extendiéndose esta recomendación a edades más precoces siempre que se lleve a cabo de una manera segura sin incrementar el riesgo de hipoglucemia.

Hasta ahora, la inyección subcutánea de insulina, ya sea en forma de múltiples dosis o por medio de un sistema de infusión continua de la misma, es la única vía eficaz y segura de administración de insulina de la que disponemos para llevar a cabo la terapia intensiva requerida en el manejo de la enfermedad. Se están investigando nuevas vías de administración de la insulina con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes con DM1, sobre todo en la edad pediátrica. Una de estas posibles vías alternativas de administración es la inhalada, ya que al ser el pulmón un órgano muy vascularizado tiene una gran capacidad para la absorción de medicamentos. Este punto enfatiza el interés de conocer la capacidad funcional del pulmón en los pacientes con DM1, por un lado, por la necesidad de que dicho órgano funcione con normalidad para que la vía inhalada sea una alternativa útil para la administración de insulina y, por otro, para poder diferenciar, si se iniciara esta nueva terapia, la posible aparición de efectos secundarios que serían atribuibles a dicho tratamiento y no a disfunciones pulmonares previas como consecuencia de complicaciones propias de la enfermedad en dicho órgano.

EL PULMÓN

La respiración es un proceso complejo que tiene como objetivo el aporte de O_2 a los tejidos y la eliminación del dióxido de carbono (CO_2). Este proceso es fundamental en el organismo, pues el O_2 aporta la energía necesaria para realizar las funciones metabólicas celulares y el CO_2 es el principal producto de desecho del metabolismo tisular. El aparato respiratorio tiene como función principal efectuar un adecuado intercambio de gases entre la sangre y la atmósfera. Esta función necesita de una correcta mecánica respiratoria, es decir, de un sistema íntegro que consiga que el aire entre a través de las vías aéreas, fluya hasta el final de las mismas y posteriormente salga de nuevo hasta ser exhalado a la atmósfera.

El componente principal del sistema respiratorio es el pulmón, que es un órgano esponjoso y flexible, situado en el interior de la caja torácica. Con los movimientos respiratorios el pulmón cambia cíclicamente de volumen; así, se comprime al expulsarse el aire durante la espiración y se expande al llenarse de aire durante la inspiración. Estos movimientos respiratorios se realizan con ayuda de la musculatura respiratoria. El pulmón está compuesto por tejido fibromuscular con múltiples espacios aéreos y por una importante red vascular con vasos de diferente calibre.

1. FUNCIONES PULMONARES

El pulmón realiza tres funciones principales: el control ventilatorio, la función mecánica y la función microvascular (66).

1.1. Control ventilatorio

La respiración se inicia de forma espontánea y se mantiene automáticamente bajo el control del SNC. El control de la respiración se ejerce por un sistema de retroalimentación negativa que está formado por una vía aferente que recibe y transmite información a través de receptores del sistema respiratorio, cardiovascular y SNC, un mecanismo regulador central y una vía eferente que actúa a través de los sistemas nerviosos vegetativo, somático y muscular. El objetivo es mantener la composición de los gases sanguíneos dentro de la normalidad.

1.2. Función mecánica ventilatoria

La función de ventilación se realiza por la acción de las fuerzas generadas por los músculos respiratorios sobre el conjunto de la caja torácica y los pulmones. Estas fuerzas producen cambios de volumen pulmonar y crean diferencias de presión entre la atmósfera y los pulmones, provocando flujos aéreos; así se produce la entrada de aire en los mismos y su salida posterior. Según la ley de Boyle-Mariotte, a temperatura constante, la presión y el volumen de un gas se relacionan de manera inversamente proporcional de acuerdo con la fórmula "*presión * volumen = k*", donde k es una constante.

La vía aérea de conducción transporta oxígeno mediante convección, es decir, por gradiente de presión. En la mecánica de la respiración influyen, por un lado la

actividad de los músculos respiratorios, por otro las fuerzas elásticas de la pared torácica y de los pulmones y, finalmente, las resistencias de la vía aérea y del tejido pulmonar. De esta forma, el volumen de aire que está dentro de los pulmones en cada momento depende del equilibrio entre todos ellos. Además, el volumen de aire que se introduce en cada respiración depende de la edad, el peso y la talla de cada individuo, pudiéndose modificar en situaciones patológicas y en distintas enfermedades.

Para la evaluación de la función mecánica ventilatoria se utilizan los estudios de volúmenes y flujos pulmonares.

1.3. Función microvascular

La principal función de los pulmones es establecer el intercambio gaseoso de O₂ y CO₂ entre los tejidos y el aire ambiental. El intercambio gaseoso depende de tres procesos: la ventilación, la difusión a través de la membrana alveolo-capilar y la perfusión pulmonar.

El proceso de difusión se define como el flujo de partículas desde un área de mayor a otra de menor concentración de las mismas. En la vía aérea respiratoria, a nivel alveolar, el intercambio gaseoso se realiza por difusión pasiva dependiente del gradiente de presión específico del gas. La región alveolar está constituida por un 85% de aire y un 15% de septos, que incluyen tejido fibroso-conectivo y capilares sanguíneos. La membrana o barrera alveolo-capilar, en condiciones normales, tiene un espesor mínimo que no supone una limitación para el intercambio gaseoso. La capacidad de difusión gaseosa pulmonar tiene dos componentes: uno es la capacidad de difusión de membrana, relacionada directamente con el área de superficie alveolo-capilar e inversamente con el grosor de la barrera, el otro es la capacidad de difusión

sanguínea, relacionada directamente con el volumen sanguíneo alveolo-capilar y la concentración de hemoglobina en sangre.

En el pulmón existe una densa red alvéolo-capilar, que maximiza el área de superficie para el intercambio gaseoso, y una delgada barrera de intercambio gaseoso, que minimiza distancias entre el espacio aéreo y el vascular, lo que favorece dicho intercambio permitiendo así una gran capacidad de difusión. Cambios histológicos en el pulmón, como la fibrosis intersticial, producen alteraciones en la permeabilidad y la difusión alveolo-capilar, alterando con ello la función microvascular pulmonar.

En situación basal, no todas las unidades alveolares están ventiladas ni todos los capilares alveolares están perfundidos, existiendo una importante reserva que se vuelve funcional en respuesta a distintas necesidades. En situación normal, la difusión gaseosa aumenta de forma lineal con el gasto cardiaco, lo que refleja la posibilidad de utilización de estas reservas microvasculares, y su medida se utiliza para evaluar la integridad microvascular. Así, por ejemplo, en reposo no todas las unidades alveolares están ventiladas, pero durante el ejercicio, como consecuencia del reclutamiento de un mayor número de las mismas, se distiende el pulmón para aumentar el área de intercambio gaseoso. De la misma manera, en reposo no todos los capilares alveolares están perfundidos, pero cuando aumenta el flujo pulmonar en respuesta al ejercicio se abren y distienden más capilares, aumentando así la superficie vascular de intercambio. Ambos procesos, de forma conjunta e interactiva, favorecen y aumentan la capacidad de difusión gaseosa, por lo que una disminución de la misma sugeriría una menor reserva microvascular pulmonar.

Las características anatómicas del pulmón antes descritas, con una amplia red vascular y un abundante tejido fibromuscular, lo hacen candidato para desarrollar alteraciones funcionales como consecuencia de microangiopatías y/o conectivopatías, ya sean como patología primaria o secundaria; dentro de estas últimas podríamos incluir la posible implicación del pulmón en la DM1. Las grandes reservas pulmonares pueden ser las responsables de que los síntomas y alteraciones de la función pulmonar (FP) en distintas patologías sistémicas aparezcan más tarde que en otros órganos con un mismo nivel de lesión anatómica. Esta situación podría ocurrir en el pulmón de los pacientes con DM1.

2. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN PULMONAR

El estudio de la FP permite detectar o descartar alteraciones de las distintas funciones del pulmón. Además, ayuda a monitorizar la evolución de la enfermedad, a valorar la gravedad del proceso y a controlar el efecto del tratamiento específico prescrito.

Existen distintos métodos para determinar la FP siendo los más importantes los siguientes (67):

2.1. Espirometría

La espirometría es una prueba que valora la función ventilatoria del pulmón a través de la determinación del volumen de aire que un individuo inhala o exhala en valor absoluto o en función del tiempo, midiendo también flujos y capacidades pulmonares (Figuras 3, 4a y 4b).

La espirometría puede ser:

- SIMPLE. Se realiza con una mecánica respiratoria relajada, sin ser dependiente del tiempo ni del esfuerzo realizado. Proporciona datos de volúmenes y capacidades estáticos, permitiendo la medición de:

- Volumen corriente o tidal (V_t): volumen que se inspira o se expira durante un ciclo respiratorio normal.

- Capacidad vital (VC): volumen máximo movilizado lentamente entre las posiciones de máximas inspiración y espiración.

- Volumen de reserva inspiratorio (IRV): volumen que se puede inspirar desde el nivel final de una inspiración normal.

- Capacidad vital inspiratoria (IVC): volumen máximo inhalado desde el punto de máxima exhalación hasta la máxima inspiración, medido durante una maniobra de inhalación lenta.

- Volumen de reserva espiratorio (ERV): volumen máximo exhalado desde la posición de una espiración normal.

- Capacidad vital espiratoria (EVC): volumen máximo exhalado desde el punto de máxima inspiración hasta la máxima espiración, medido durante una maniobra de exhalación lenta.

● FORZADA. La espirometría forzada analiza el volumen exhalado en relación con el tiempo, a lo largo de una maniobra de espiración con máximo esfuerzo, habiendo realizado previamente una maniobra de máximo esfuerzo inspiratorio. Esta prueba es la que más se emplea en pacientes con patología respiratoria. En este registro se obtienen dos curvas: una de “flujo/volumen” y otra de “volumen/tiempo”. Entre los parámetros que permite cuantificar se encuentran:

- Capacidad vital forzada (FVC): es un indicador de volumen/capacidad pulmonar. Se define como el volumen máximo exhalado con el máximo esfuerzo desde la posición de máxima inspiración o capacidad pulmonar total hasta la máxima espiración. Su valor está disminuido en la patología pulmonar restrictiva y en casos moderados-graves de patología obstructiva.

- Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV_1): es un indicador de flujo espiratorio, que mide el volumen de gas espirado durante el primer segundo de la FVC. Es el parámetro más empleado de la FP, siendo una medida de flujo y, por lo tanto, dependiente del esfuerzo. Refleja la presencia o no de resistencia de las

grandes vías aéreas y se utiliza para valorar presencia y/o grado de obstrucción a nivel pulmonar.

- Relación FEV₁/FVC: es un indicador del grado de obstrucción/restricción, siendo el indicador espirométrico más sensible de obstrucción bronquial al flujo aéreo. Relaciona el FEV₁ con la FVC, por lo que expresa el volumen de aire exhalado en el primer segundo respecto al máximo volumen que puede ser exhalado en la maniobra de espiración forzada. La relación del FEV₁ con la VC no forzada se conoce como índice de Tiffeneau.

- Flujo espiratorio forzado (FEF): flujo espiratorio máximo alcanzado en un determinado momento de la FVC. Por ejemplo, el FEF_{25-75% FVC}: flujo espiratorio forzado medio durante el intervalo entre el 25 y el 75% de la FVC.

- Flujo espiratorio máximo (MEF): flujo espiratorio máximo alcanzado en un determinado momento de la FVC. Por ejemplo, MEF_{25% FVC}: flujo espiratorio máximo alcanzado cuando queda por exhalar el 25% de la FVC.

- Pico de flujo espiratorio (PEF): flujo espiratorio máximo durante la maniobra de FVC.

- Pico de flujo inspiratorio (PIF): flujo inspiratorio máximo durante la maniobra de FVC.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El estudio de los flujos aéreos en relación con los volúmenes pulmonares permite diferenciar los tres patrones fisiopatológicos de la exploración funcional pulmonar: obstructivo, restrictivo y mixto. Así, en el patrón obstructivo existe una limitación al flujo aéreo, siendo clave en el diagnóstico la reducción del FEV₁,

estando además disminuida la relación FEV₁/FVC. El patrón pulmonar restrictivo aparece en las enfermedades pulmonares que cursan con disminución del volumen pulmonar en las que, de forma característica, la FVC está disminuida y la relación FEV₁/FVC es normal o está aumentada. En el patrón mixto hay una disminución de los tres parámetros antes nombrados.

2.2. Pletismografía corporal

Los pletismógrafos corporales permiten, bajo circunstancias controladas, calcular volúmenes absolutos de aire y capacidades pulmonares en un momento dado y, también, medir las resistencias al paso del aire por las vías aéreas. La valoración de los volúmenes estáticos es imprescindible en el diagnóstico de la patología pulmonar restrictiva y también en la evaluación de los mecanismos de patologías obstructivas, ayudando a distinguir entre un proceso restrictivo u obstructivo pulmonar. Además, con la pletismografía se puede cuantificar la resistencia al paso del aire en la vía aérea. Esta técnica permite determinar los siguientes parámetros (Figura 3):

- Capacidad pulmonar total (TLC): volumen total de gas contenido en el pulmón al final de una inspiración máxima.
- Volumen residual (RV): volumen de gas remanente en el pulmón al final de una espiración máxima.
- Capacidad residual funcional (FRC): volumen de gas existente en el pulmón y vías aéreas al final de una espiración a VC. La medición de la misma no se ve afectada por los espacios mal ventilados.

- Volumen de gas intratorácico (ITGV): volumen de gas en el interior del tórax en cualquier momento del ciclo respiratorio. Este parámetro no se puede medir por medio de la prueba de espirometría forzada.

- Resistencia de las vías aéreas (Raw): valora el total de las resistencias de la vía aérea tanto intra como extratorácicas. Se define como la relación entre el flujo de aire a través de las vías respiratorias y la presión que se necesita ejercer para producir ese flujo.

- Resistencia específica de las vías aéreas (sRaw): se calcula corrigiendo la Raw en función de la cantidad de gas intratorácico en la que se ha medido ($sRaw=Raw/ITGV$). Esta corrección permite minimizar el aumento de la Raw en la espiración debido a la disminución del diámetro de la vía aérea y el descenso de la Raw en la inspiración debido al aumento del diámetro de la vía aérea.

- Conductancia de las vías aéreas (Gaw): se calcula como la inversa de la Raw ($=1/Raw$).

- Conductancia específica de las vía aéreas (sGaw): se calcula como la inversa de la sRaw ($=1/sRaw$), lo cual lo hace independiente de la talla y del sexo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Normalmente, en pacientes con patología pulmonar obstructiva se detecta un aumento de los volúmenes pulmonares que se expresa por aumento de TLC, VR y FRC y reducción de VC. El mejor parámetro para definir el patrón restrictivo de la patología pulmonar es la alteración de la TLC, objetivándose en estos pacientes una disminución la misma. La Raw está aumentada en los casos de patología pulmonar obstructiva.

2.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono

Para la medición de la capacidad de difusión de gases en el pulmón se utiliza la capacidad de difusión del monóxido de carbono (CO), pues éste compite con el O₂ por los sitios de unión al hemo. Mediante esta prueba es posible determinar:

- Capacidad de difusión de CO (DLCO): la cantidad de dicho gas, captada por minuto, en relación con el gradiente de CO a través de la membrana alvéolo-capilar. Valora la integridad de la barrera alveolo-capilar y representa la superficie alveolar disponible para realizar el intercambio gaseoso y la facilidad con la que se realiza el mismo. El DLCO aumenta linealmente con el gasto cardiaco; este incremento refleja la mejor utilización de las reservas microvasculares y se usa para evaluar la integridad microvascular.

- Volumen alveolar (VA): volumen de aire que existe en el espacio alveolar, lo que representa la cantidad de unidades que colaboran en el intercambio gaseoso.

- DLCO/VA: capacidad de difusión específica por unidad de volumen pulmonar, es decir, la capacidad de difusión de acuerdo a la cantidad de aire existente en el espacio alveolar; es así el aire que difunde. El DLCO es proporcional VA.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

En situación normal, la DLCO aumenta de forma lineal con el gasto cardiaco, como ocurre en situaciones de aumento del flujo sanguíneo pulmonar, por ejemplo, el ejercicio. Este incremento refleja la mejor utilización de las reservas microvasculares y se utiliza para evaluar la integridad microvascular. Por el contrario, la DLCO disminuye en situaciones de pérdida de unidades alveolares

(como ocurre en el enfisema), con la disminución de la llegada de sangre a la unidad alveolo-capilar y con la alteración de la membrana alveolo-capilar (como ocurre en las situaciones de fibrosis intersticial) Los cambios en la permeabilidad y difusión alveolo-capilar y la fibrosis intersticial alteran la función microvascular pulmonar.

2.4. Determinación de óxido nítrico exhalado

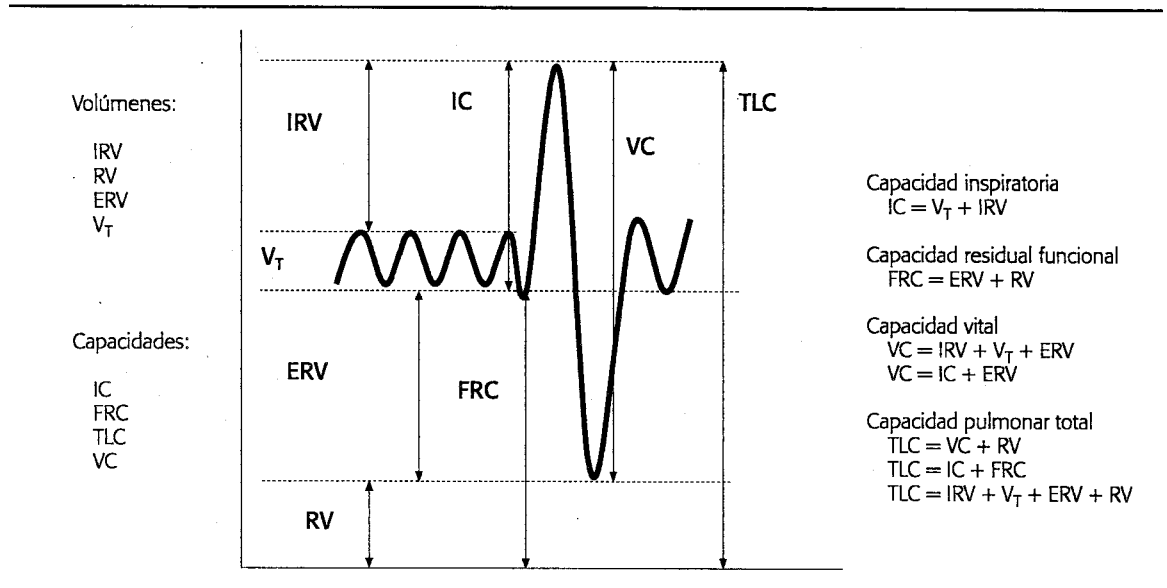
La determinación del óxido nítrico exhalado (NOe) mide la presencia y el grado de inflamación eosinofílica en la vía aérea, completando y optimizando el estudio de FP; es una herramienta fundamental en la patología asmática. En la última década se han publicado múltiples estudios sobre NOe y su papel en la fisiopatología respiratoria, demostrando una correlación entre el NOe y la inflamación bronquial eosinofílica, tanto en adultos (68) como en niños (69,70). Los resultados son independientes de la edad y del sexo de los sujetos, así como del peso y de la talla de los mismos.

La medición del NOe se realiza por el principio de quimioluminiscencia. Existen métodos no invasivos, sencillos, rápidos y fiables que permiten cuantificar los niveles de NOe y, de manera indirecta, la inflamación bronquial secundaria a eosinofilia con datos objetivos y reproducibles.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La determinación de NOe da una aproximación del grado de inflamación eosinofílica de las vías aéreas de cada individuo. Así, los niveles de NOe suelen estar elevados en los pacientes con patología asmática no tratada o mal controlada, se mantiene en rangos normales en patologías obstructivas, como la fibrosis quística, y están clásicamente disminuidos en la discinesia ciliar primaria.

Figura 3.



Volúmenes y capacidades pulmonares

Figura 4.

Figura 4a.

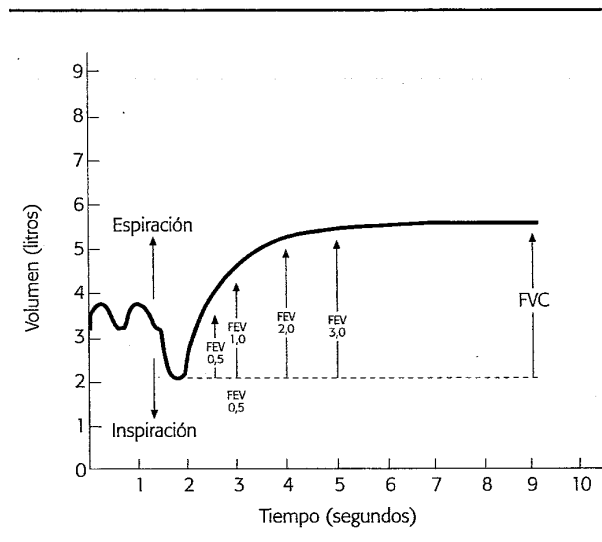
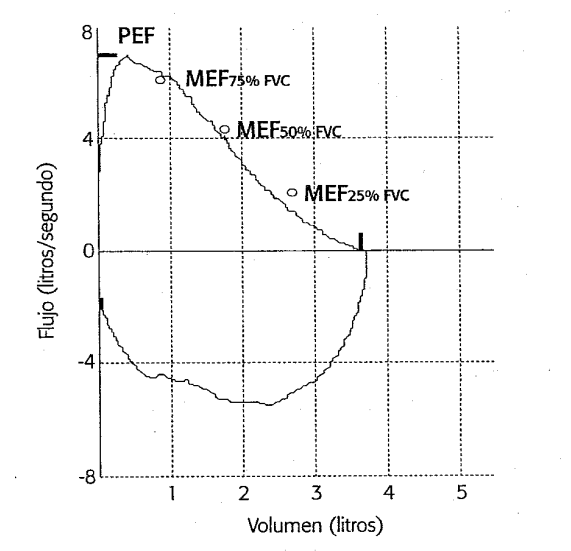


Figura 4b.



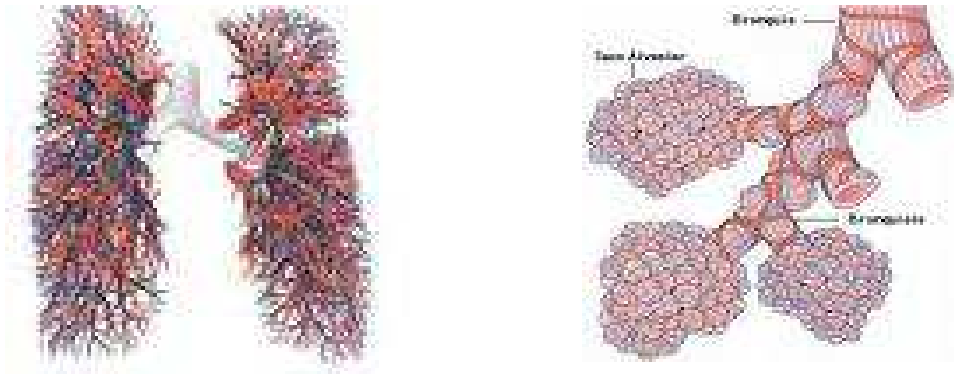
Curvas espirométricas. a) Curva volumen/tiempo; b) Curva flujo/volumen

FUNCIÓN PULMONAR EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1

Como ha sido descrito previamente, la DM1 es una enfermedad metabólica en la que se ven afectados el tejido vascular y conectivo de distintos órganos (71,72). Existen evidencias bioquímicas, morfológicas y funcionales de la presencia de anomalías del colágeno y la elastina en pacientes con DM1 (43,73,74,75,76,77). La red alveolo-capilar pulmonar es el mayor órgano microvascular del organismo, con un área de superficie de 140 m² (Figura 5a y 5b) y, además, el pulmón está constituido por una gran cantidad de tejido fibromuscular. Teniendo en cuenta esta amplia red microvascular y el abundante tejido conectivo del pulmón, éste órgano podría ser diana de las complicaciones crónicas de la DM1, inducidas fundamentalmente por la glicosilación no enzimática avanzada de las proteínas. Además en los sujetos sanos, la insulina modula el crecimiento celular y el metabolismo a través de receptores situados en distintos órganos, entre los que también se encuentra el pulmón. La insulina en el pulmón aumenta la proliferación de las células del epitelio bronquial, las del epitelio alveolar y las del músculo liso vascular, inhibe la apoptosis y promueve la vasodilatación (78); la alteración de estas funciones, secundarias al déficit de insulina en la DM1, también harían al pulmón un posible órgano diana de las complicaciones de esta enfermedad.

Figura 5.

Figura 5a



Anatomía pulmonar. Los pulmones, derecho e izquierdo, están formados por lóbulos en los que se distinguen distintos segmentos que se corresponden con los bronquios segmentarios; éstos se subdividen en bronquios propiamente dichos y bronquiolos, que a su vez se ramifican en bronquiolos terminales y bronquiolos respiratorios que desembocan en los alvéolos

Figura 5b



Microvasculatura pulmonar. Los pulmones tienen unos 500 millones de alvéolos, con una superficie total aproximada de 140 m². A nivel vascular, cada alvéolo dispone de su propia red vascular-capilar, formando la mayor red microvascular del organismo

Los **estudios histopatológicos**, realizados tanto en pulmón de animales de experimentación como en seres humanos, sugieren que el sistema respiratorio está afectado en los pacientes con DM1 como parte de la historia natural de la enfermedad (79,80,81,82,83). A nivel anatomopatológico, los estudios *postmortem* de los pulmones de los pacientes con DM1 muestran una microangiopatía con engrosamiento de las paredes de los capilares alveolares septales y de las arteriolas pulmonares (84). También, se ha encontrado engrosamiento de las membranas basales del epitelio alveolar, hialinosis vascular, fibrosis nodular intraseptal, granulomas, proteinosis focal con obliteraciones septales y enfisema local (82,83,85). El engrosamiento de la membrana basal se debe al incremento de la matriz extracelular y del tejido conectivo a ese nivel (79,86). Como mecanismo determinante de estas alteraciones se ha postulado la anomalía en la síntesis y recambio del tejido conectivo pulmonar, secundario a cambios de la composición del colágeno debidos a la glicosilación no enzimática de las proteínas inducida por la hiperglucemia crónica.

A nivel experimental, el pulmón de ratas diabéticas no tratadas con insulina muestra un incremento de síntesis y una disminución de la degradación de colágeno y elastina. La morfología de los neumocitos tipo II está marcadamente alterada, con dilatación de la cisterna del retículo endoplásmico granular y de los sáculos de Golgi (87), lo que determina una alteración del epitelio bronquial (88). Otros autores, en estudios realizados también en ratas, encuentran además un engrosamiento del intersticio alveolar y de las proteínas del tejido conectivo (89) que hace que la proporción del volumen de los septos alveolares sea mayor y, en consecuencia,

menor el espacio para el intercambio aéreo. Todos estos cambios se normalizaron con la administración de insulina (79,89).

In vivo, en animales, el engrosamiento de la lámina basal alveolar parece no correlacionarse con la duración de la DM1 (81,83). La razón por la cual la duración de la enfermedad no influye en el engrosamiento de la lámina basal pulmonar no está aclarada; pero se piensa que es una alteración que aparece de repente y que no cambia con la evolución de la enfermedad.

Por lo comentado anteriormente, se podría pensar en el pulmón como un órgano en el que, como consecuencia de la hiperglucemia crónica, se afectaría su estructura microvascular y/o intersticial y, con ella, la FP en pacientes con DM1 con mal control metabólico y/o larga evolución de la enfermedad. Diferentes estudios, que se enumeran detalladamente a continuación, han valorado si esta alteración tiene repercusión sobre la FP. Globalmente muestran resultados contradictorios, pues unos trabajos describen la afectación de las tres principales funciones pulmonares en mayor o menor medida, y otros no detectan ninguna disfunción pulmonar.

1. Afectación del control ventilatorio

Los estudios que valoran en los pacientes con DM1 el control y la respuesta ventilatoria a distintos estímulos, como el ejercicio y la hipoxia y/o hipercapnia, muestran resultados contradictorios. Unos detectan diferencias entre pacientes con diabetes y sujetos controles (90,91,92), otros sólo lo evidencian en aquellos enfermos con diabetes y neuropatía autonómica (93,94,95,96) y algunos estudios no muestran alteraciones de los parámetros ventilatorios en los pacientes con diabetes (97,98).

Entre las manifestaciones de la neuropatía autonómica en DM1, se han descrito una mayor incidencia de aspiraciones (99) y desórdenes respiratorios durante el sueño (100,101), así como una disminución de la percepción de la inspiración (102) y del reflejo de la tos (103). Otros estudios han demostrado una disminución de la respuesta broncodilatadora a drogas colinérgicas (104) y de la broncoconstrictora en respuesta al aire frío (105), con normalidad de la reactividad del músculo liso a la histamina inhalada, indicando con ello un tono vagal respiratorio deprimido pero una respuesta final intacta a la estimulación directa. Hay autores que postulan que la neuropatía autonómica respiratoria podría retrasar la aparición de disnea en los pacientes con diabetes (106).

2. Afectación de la mecánica pulmonar

En el año 1976, Schuyler y colaboradores (cols) (107) fueron los primeros que evaluaron la FP en DM1, incluyendo el análisis de volúmenes pulmonares, resistencia al flujo aéreo, DLCO y elasticidad pulmonar. Esta valoración la hicieron en 11 adultos jóvenes con DM1 (con edades comprendidas entre 21 y 28 años) en comparación con 12 controles sanos. Estos autores evidenciaron una disminución de la TLC, sin encontrar alteraciones en el resto de volúmenes pulmonares, pero sí una pérdida de retracción elástica en los pacientes con diabetes; este último parámetro lo infirieron de la determinación de las presiones transpulmonar e intrapleurales a través de la presión esofágica medida con un balón esofágico. Dado que entre los criterios de exclusión estaba ser fumador, tener antecedentes de alergia o padecer enfermedades pulmonares, estos hallazgos fueron interpretados como secundarios al efecto de la hiperglucemia sobre las proteínas elásticas del pulmón. Esta es la

primera vez en la que se reseña en la literatura la posibilidad de que el pulmón pueda ser también un órgano diana de la DM1 debido, presumiblemente, a las alteraciones del colágeno y la elastina, proteínas que se encontrarían alteradas por la glicosilación avanzada no enzimática de las mismas, lo que determinaría una degeneración del parénquima pulmonar que produciría anomalías en el comportamiento elástico pulmonar. Un año más tarde, Schernthaner y cols (108), hicieron un estudio en 20 pacientes adolescentes con DM1 comparándolos con 20 sujetos controles, sin encontrar diferencias en los volúmenes pulmonares entre ambos grupos, por lo que no pudieron corroborar los hallazgos encontrados previamente por Schuyler.

Con posterioridad, los distintos estudios realizados hasta la actualidad sobre la mecánica pulmonar en pacientes con DM1 aportan resultados diversos y a veces contradictorios. La mayoría de los mismos evalúa la mecánica pulmonar analizando exclusivamente parámetros espirométricos, de forma que solo se valora la existencia o no de afectación de la vía aérea periférica mediante la determinación de volúmenes simples y flujos aéreos; pero hay también estudios que han empleado la pletismografía para determinar capacidades y volúmenes pulmonares complejos. Tras los estudios iniciales de FP de los años 70, anteriormente descritos, en el año 1985 Asanuma y cols (109) demostraron por primera vez, en un estudio realizado en 50 pacientes adultos con DM1, un descenso en los parámetros espirométricos FVC y VC. Posteriormente, Sandler y cols (110), en su estudio en pacientes con DM1 sin sintomatología respiratoria, detectaron alteraciones funcionales en el 73% de ellos. Este grupo evaluó la FP mediante la determinación de volúmenes y flujos pulmonares y detectó una afectación leve-moderada de la función mecánica

pulmonar y un descenso del flujo sanguíneo capilar pulmonar, sugiriendo que esta disfunción era una complicación medible y de aparición precoz en pacientes con DM1. La disminución de los volúmenes pulmonares analizados mediante espirometría se ha evidenciado, también, en otros estudios de FP en pacientes con DM1 adultos (111,112), incluyendo una disminución de la TLC (111,113,114). Sin embargo, otros autores no han podido detectar alteraciones de los volúmenes pulmonares en este grupo de pacientes (115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122).

En 1990, Heimer y cols (123) compararon un grupo control con 31 pacientes adolescentes y adultos jóvenes con DM1. Analizaron, junto a volúmenes espirométricos, la fuerza y la resistencia de la vía aérea mediante la determinación, en posición sentada, de la presión de la boca contra una vía aérea obstruida medida en inspiración y espiración máximas, estudiando por primera vez la fuerza y resistencia de la musculatura respiratoria. Ellos encontraron valores inferiores de VC, TLC y alteración de la ventilación voluntaria, así como una menor resistencia muscular en los pacientes con diabetes, sin que existiesen diferencias con respecto al grupo control en la fuerza muscular.

Siguiendo con la evaluación de las resistencias pulmonares en pacientes con DM1, Schnack y cols en el año 1996 (121), en un grupo de DM1 adultos, fueron quienes por primera vez detectaron un leve aumento de la Raw en esta patología. El mecanismo por el cual puede estar incrementada la Raw en DM1 no parece claro. Lo descrito previamente en relación con la glicosilación no enzimática avanzada de las proteínas tisulares podría llevar a un aumento de las uniones del colágeno y la elastina, lo que produciría un engrosamiento de las membranas basales. Ello podría

explicar el comportamiento más rígido de la vía aérea y, de forma secundaria, el aumento de las resistencias.

Aunque la disminución de los volúmenes pulmonares descrita en los estudios anteriores no determinaba la existencia de una alteración claramente restrictiva de la FP, hay trabajos en pacientes con DM1 en los que los autores sí que concluyen que las alteraciones encontradas en la FP son compatibles con un patrón restrictivo pulmonar. La patología restrictiva pulmonar se explica por las alteraciones del colágeno en el parénquima pulmonar, pero puede ser secundaria a la alteración de las estructuras externas como la caja torácica o la piel. Por ello, cabe puntualizar que alguno de los estudios que detectan esta alteración pulmonar se ha llevado a cabo entre pacientes que presentaban limitación de la movilidad articular, atribuyendo en estos casos la disfunción pulmonar al engrosamiento y rigidez de la piel y la caja torácica, secundarias a alteraciones del tejido conectivo (124,125,126,127), alteración que también podrían llegar a afectar al parénquima pulmonar. El patrón restrictivo pulmonar también se ha descrito en adultos jóvenes con DM1 (107), lo que podría ser explicado por cambios en la “distensibilidad” de la pared torácica y/o a cambios en la elasticidad del tejido pulmonar.

Estas observaciones sugieren que la alteración de la mecánica pulmonar y la disminución de los volúmenes pulmonares en sujetos con DM1 podrían deberse al daño del tejido conectivo (fundamentalmente colágeno y elastina) inducido por la glicosilación no enzimática avanzada de las proteínas (128), con una aceleración de los cambios que fisiológicamente se producen con la edad. De este proceso también podría resultar la pérdida del lecho microvascular (43,77).

3. Afectación de la función microvascular

Por lo que respecta a la evaluación de la capacidad de intercambio gaseoso en el pulmón de los pacientes con DM1, existen suficientes evidencias que apoyan la teoría de que esta función se encuentra alterada en estos pacientes, de forma que el pulmón sería también un órgano diana de la microangiopatía diabética.

En 1985, Asanuma y cols (109), además de detectar una disminución de la VC y FVC en pacientes con DM1, describieron por primera vez una menor DLCO entre los sujetos con DM1 en comparación con el grupo control, centrando la atención en cambios en la microvascularización pulmonar. Sandler y cols en 1987 (110), compararon a 40 pacientes con DM1, de edades comprendidas entre los 15 y 60 años, con un grupo control, y detectaron en el grupo con DM1 una disminución de la DLCO en situación de reposo así como un descenso del volumen sanguíneo capilar pulmonar; este último fue valorado mediante el ratio de la reacción de CO con la hemoglobina y la capacidad de difusión de membrana. Además, evidenciaron una menor retracción elástica pulmonar, inferida de la determinación de la presión transpulmonar medida a través de la presión esofágica, dato ya descrito en estudios previos (107); sin embargo, no encontraron diferencias en los volúmenes pulmonares. Teniendo en cuenta que la DLCO depende de la integridad del endotelio capilar pulmonar, los hallazgos de Sandler y cols, en los que se detectan cambios de la vascularización pulmonar en pacientes con DM1, apoyan la existencia de una microangiopatía a nivel pulmonar en esta enfermedad y centran la atención en este punto. Estas alteraciones han sido corroboradas posteriormente por otros autores (111,112,114,121). Entre los estudios más recientes en población adulta con DM1,

en el año 2002 Boulbou y cols (129) detectaron reducción de la DLCO y la TLC en 15 pacientes adultos con DM1, datos a favor de una alteración pulmonar restrictiva.

Globalmente, hay estudios que interpretan que la glicosilación no enzimática avanzada de las proteínas determina un engrosamiento de las paredes de los capilares, la membrana alveolo-capilar y de la membrana basal alveolar (82,83,130), lo que tiene como consecuencia la disfunción de la difusión e intercambio gaseoso pulmonar debido a dichas alteraciones microvasculares y del intersticio pulmonar.

4. Inflamación pulmonar

Otro dato a tener en cuenta en los pacientes con diabetes es la presencia de inflamación sistémica (131), la cual puede asociar una disfunción del endotelio y puede contribuir, de una forma independiente, a la obstrucción de la vía aérea de manera similar a lo que ocurre en otras patologías como el asma. En la actualidad es posible medir, de forma no invasiva, la inflamación eosinofílica en el epitelio pulmonar gracias a la determinación del NOe en el aire exhalado. No existen en la literatura datos publicados en pacientes con DM1 que analicen este aspecto.

5. Estudios longitudinales de función pulmonar en diabetes mellitus tipo1

Se ha sugerido que la glicosilación no enzimática avanzada de proteínas, entre ellas el colágeno, es un proceso que aparece de forma precoz y es muy activo en el pulmón de los pacientes con patología diabética, fundamentalmente antes del diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, pero que cuando la diabetes se detecta y se controla la hiperglucemia, el recambio del colágeno entra en un nuevo equilibrio y consecuentemente la FP, si existía alteración, se estabiliza. Existen muy pocos estudios que analicen la evolución de la FP en pacientes con diabetes a lo largo de su

evolución. En los individuos sanos se conoce el declinar natural de la capacidad de difusión gaseosa pulmonar con la edad (132) y también del resto de los parámetros de FP. En la literatura sólo hay publicados dos estudios que hayan analizado longitudinalmente a pacientes adultos con DM1. Ambos se realizaron en la misma cohorte de 18 pacientes con DM1 divididos en dos grupos según el tipo de terapia insulínica utilizada (estándar o intensiva), sin comparación con un grupo control. El primero de ellos, tras 6 años de seguimiento, detecta en el grupo de tratamiento estándar unos valores de HbA1c mayores junto con una FVC y una DLCO significativamente menores, por lo que sugiere que el buen control metabólico de la enfermedad puede ayudar a prevenir el deterioro de la FP de estos pacientes (133). El segundo estudio analiza los mismos enfermos tras 7 años de evolución, y concluye que los pacientes con peor control metabólico tienen una peor FP evaluada mediante volúmenes pulmonares y DLCO (134), asociado a un declinar de la misma más rápido que el propio de la edad; por otro lado, en pacientes con buen control metabólico, la DLCO no sólo no empeora sino que incluso mejora con el mejor control glucémico secundario al tratamiento insulínico intensivo (134)

En resumen, aunque en ocasiones los resultados de los estudios de FP en pacientes adultos con DM1 son contradictorios, se considera en el momento actual que el pulmón puede ser un órgano diana de las complicaciones crónicas de esta enfermedad. Las diferencias en los resultados obtenidos en los diferentes estudios pueden ser, en parte, debidas a problemas metodológicos ya que estos estudios se han realizado en grupos pequeños de pacientes y en poblaciones heterogéneas en cuanto a edad, raza, tiempo de evolución de la diabetes, grado de control metabólico de la

misma y presencia o no de complicaciones, entre ellas, la presencia de limitación de la movilidad articular. Además, existen variaciones en los valores de normalidad empleados como referencia. Incluso, los estudios más antiguos incluyen pacientes fumadores y/o con patología pulmonar previa (118,119,126,135), lo que les da un escaso valor.

FUNCIÓN PULMONAR Y DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN EDAD PEDIÁTRICA

Existen pocos estudios donde se valore la FP en los pacientes con DM1 en la edad pediátrica y, como en el caso de los adultos, los resultados son contradictorios.

El primero de estos estudios, que incluye también a adultos jóvenes, fue realizado por Buckingham y cols en 1986 (126) en 375 pacientes con DM1. Los autores detectaron una VC inferior a 2 DE en el 19% de los pacientes. En el análisis multivariante sólo se detectó relación entre el descenso de VC y el sexo femenino, sin encontrar ninguna relación entre este parámetro y la edad, raza, duración de la diabetes, dosis de insulina, número de inyecciones de insulina diarias, cambios en la piel, limitación de la movilidad articular, retinopatía, proteinuria o historia de asma.

En el año 1987, Primhak y cols (136) estudiaron a 88 niños con DM1, con una duración media de la diabetes de $4,6\pm 3,8$ años. Encontraron una disminución de la FVC, con igualdad en los valores de FEV en 0,5 y 1 segundos, en comparación con un grupo control de 216 niños sanos. No detectaron evidencias de que el descenso de la FVC se relacionara con la duración o grado de control metabólico de la enfermedad. Entre los niños con DM1, 27 de ellos fueron seguidos durante un máximo de 3 años, media de $1,7\pm 0,5$ años; este seguimiento no mostró un deterioro progresivo de la FVC. No existen otros estudios pediátricos longitudinales de FP en DM1. Los autores sugirieron dos posibles explicaciones a estas alteraciones: la primera, la posibilidad de que al diagnóstico y en los primeros meses de la enfermedad se produjese un episodio agudo pero aislado de daño pulmonar no progresivo; y, la segunda, que la reducción de los volúmenes pulmonares en la DM1

fuera el resultado de algún factor genético, posiblemente involucrado en una anomalía de la estructura del colágeno ligada a la predisposición genética de la diabetes. Los autores concluyen que un diagnóstico temprano de la diabetes con un adecuado control metabólico podría permitir que el sistema respiratorio adoptase mecanismos que mantuvieran estable la FP durante años.

Villa y cols (137), en 1988, analizaron por primera vez la reactividad bronquial en un grupo de 55 niños con DM1, en comparación con 60 niños controles, mediante el test de carbacol y el de ejercicio. En este estudio se detectó en el grupo de DM1 una menor reactividad bronquial, que se correlacionaba positivamente con la duración de la enfermedad, junto con una menor tendencia al asma. Los autores concluyeron que estos datos podrían ser indicativos de un daño en el sistema nervioso autónomo que determinaría, por un lado, las complicaciones diabéticas y, por otro, sería un factor protector de asma en este grupo. Además, objetivaron un descenso de FEV₁ en los sujetos DM1 en comparación con el grupo control, pero sin encontrar ningún valor patológico, ya que los valores de este parámetro siempre fueron superiores al 80% del valor predicho.

Posteriormente, en el año 1993, Verroti y cols (138) realizaron un estudio en 68 niños con DM1 y microalbuminuria persistente, sin otros datos de microangiopatía diabética, encontrando todos los valores espirométricos normales. Los autores concluyeron que la microalbuminuria no era un marcador de riesgo para la alteración de la FP. Tampoco encontraron diferencias en relación con el tiempo de evolución de la diabetes ni con los niveles de HbA1c. Como dato novedoso, estudiaron las Raw, parámetro de FP previamente no estudiado, y objetivaron un

aumento de las Raw en relación con el tiempo de evolución de la diabetes, pero sin una correlación entre el aumento de éstas con los niveles de microalbuminuria.

Van Gent y cols (139), en 2002, fueron el primer grupo en evaluar la DLCO en niños con DM1, en un total de 27, sin encontrar alteraciones en este parámetro. Tampoco detectaron alteraciones en los volúmenes pulmonares evaluados mediante espirometría forzada. Sin embargo, al igual que el trabajo del grupo de Verroti y cols, sí corroboraron el aumento de Raw en sus pacientes sin detectar relación de esta anomalía con la edad, la duración de la enfermedad ni los niveles HbA1c.

Entre los últimos estudios publicados de FP en niños con DM1 se encuentran los publicados en 2004 por los grupos de Cazzato (140) y Villa (141). Cazzato y cols (140) analizaron un grupo de 31 niños con DM1, de los cuales el 34% fueron estudiados en el momento del diagnóstico de la enfermedad, y los compararon con 41 niños controles. Como dato novedoso a tener en consideración, en este trabajo se tuvo en cuenta el grado de desarrollo puberal de los niños al analizar los resultados de las pruebas de FP. Como hallazgo más relevante, describieron el descenso de DLCO en los pacientes con DM1 en comparación con los controles, dato no encontrado previamente por otros grupos. También encontraron una disminución de FVC y FEV₁ y un mayor VR en el grupo DM1. Sin embargo, no encontraron correlación entre ninguno de los parámetros analizados de FP en relación con el tiempo evolución, el grado de control metabólico de la enfermedad ni con la presencia de complicaciones diabéticas. Villa y cols (141) estudiaron 39 niños con DM1 comparándolos con 30 niños sanos. También objetivaron una disminución de DLCO en los pacientes con DM1, especialmente en aquellos con mal control

metabólico, sin objetivar variaciones en los volúmenes ni los flujos pulmonares analizados mediante espirometría forzada. Finalmente, el último estudio publicado sobre FP en pacientes con DM1 en edad pediátrica es el del grupo de Al-Saadi y cols (142) en el año 2011. Este grupo evalúa a 52 niños de Arabia Saudí, comparando los resultados de su estudio de espirometría con valores predictivos teóricos, detectando una disminución de FVC, así como del pico-flujo espiratorio y del máximo mesoflujo espiratorio, pero sin objetivar alteración en FVE₁ ni FEV₁/FVC.

En resumen, los resultados de los estudios de FP en pacientes con DM1 en la edad pediátrica son discordantes, encontrándose en la valoración de la espirometría valores disminuidos de FVC y FEV₁ (137,139), disminución exclusiva de FVC (126,136,142) o valores normales de ambos (138,139,141). Los estudios sobre DLCO en niños con DM1 también han mostrado resultados discordantes, ya que algunos autores encuentran alteraciones de este parámetro (140,141) y otros no (139). Otros autores encuentran un aumento en las Raw en pacientes pediátricos con DM1 (138,139). La razón de esta diversidad de resultados, algunos de ellos contradictorios entre sí, todavía no está clara. Se muestra un resumen de los resultados de los estudios de FP en DM1 en edad pediátrica en Tabla 1.

Así, los estudios existentes sugieren que podría existir una alteración de la FP en esta población, incluso en el momento del diagnóstico o al poco tiempo de evolución de la enfermedad (140), aunque dichas alteraciones no tienen una repercusión clínica. Por todo ello, parece necesaria la valoración de la FP en grupos más amplios de pacientes con DM1 en edad pediátrica que ayude a aclarar los resultados previos y a analizar nuevos aspectos.

Tabla 1. Resumen de los estudios de función pulmonar en DM1 en edad pediátrica

	n	Espiro- metría	Pletismo- grafía	Resistencias	DLCO	Otros	Relaciones
Buckingham 1986 (126)	375	menor VC	---	---	---	---	sexo femenino
Primhak, 1987 (136)	88	menor FVC	---	---	---	---	no
Villa 1988 (137)	55	menor FEV ₁	---	---	---	menor reactividad bronquial*	duración DM1*
Verroti 1993 (138)	68	normal	normal	mayor	---	---	duración DM1
Van Gent 2002 (139)	27	normal	normal	mayor	normal	---	no
Cazzato 2004 (140)	38	menor FVC y FEV ₁	mayor VR/TLC	---	menor	---	no
Villa 2004 (141)	39	normal	---	---	menor	---	HbA1c
Al-Saadi 2011 (142)	52	menor FVC, PEF y MMEF	---	---	---	---	no

VC: capacidad vital, FVC: capacidad vital forzada, FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo, PEF: pico-flujo espiratorio, MMEF: máximo mesoflujo espiratorio, TLC: capacidad pulmonar total, DLCO: capacidad de difusión de monóxido de carbono, Raw: resistencias pulmonares, VR: volumen residual, HbA1c: hemoglobina glicosilada

RELACIÓN ENTRE LA ALTERACIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR Y DIFERENTES VARIABLES DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

Diversos estudios han analizado la posible relación entre la presencia de alteraciones de la FP en la DM1 y factores y/o complicaciones crónicas relacionadas con la enfermedad, como el tiempo de evolución y/o el grado de control metabólico de la misma. Igual que sucedía en el análisis de los distintos parámetros de FP, los resultados de los distintos estudios en este punto son dispares.

1. Función pulmonar y tiempo de evolución

En pacientes adultos y con respecto al tiempo de evolución de la DM1, Asanuma y cols (109) detectaron que la disminución de la DLCO estaba relacionada con la duración de la diabetes, Sandler y cols (110) también encontraron que las anomalías de la elasticidad pulmonar, de la DLCO y la reducción del flujo capilar en los pacientes con DM1 eran dependientes de la duración de la enfermedad y Heimer y cols (123) evidenciaron unos valores de VC y TLC menores a mayor duración de la diabetes. En el resto de los estudios realizados en adultos que analizaron los distintos parámetros de FP y la posible alteración de éstos en función del tiempo de evolución de la DM1, no se detectaron relaciones significativas entre ellos (111,120,122).

En población pediátrica, Verroti y cols (138) detectaron una relación directa entre las Raw y la duración de la DM1, aunque sin significación estadística. Villa y cols (137) no encuentran relación entre los volúmenes pulmonares y la duración de la enfermedad, pero sí menor reactividad bronquial a mayor tiempo de evolución de la misma. El resto de los estudios pediátricos no encuentran relación en este análisis.

2. Función pulmonar y grado de control metabólico

También se ha relacionado el grado de control metabólico de la DM1 con las alteraciones de la FP. En pacientes adultos, Schnack y cols (121) documentaron una relación inversa entre el FEV₁ y la TLC y los niveles de HbA_{1c}, apoyando la importancia del buen control metabólico de los pacientes. Ramírez y cols (133) encontraron una reducción de la DLCO del 35% en los pacientes mal controlados en comparación con la reducción del 13% en aquéllos con buen control metabólico. Estos resultados también fueron objetivados por el grupo de Niranján y cols (134). Sin embargo, otros autores no han demostrado relación entre el grado de control metabólico de la DM1 y las diferencias detectadas en parámetros espirométricos (111,120,122), pletismográficos o de difusión pulmonar (111).

La relación inversa entre HbA_{1c} y DLCO encontrada en adultos por Ramírez y cols (133) también fue detectada por Villa y cols en pacientes pediátricos (141). El resto de estudios en pacientes en edad pediátrica no encontró esta relación.

3. Función pulmonar y complicaciones crónicas vasculares

En los pacientes adultos con DM1, el descenso de DLCO se ha documentado en asociación con otras manifestaciones de la microangiopatía diabética. Así, Asanuma y cols (109) detectaron que la alteración de la capacidad de difusión dominaba en los pacientes con retinopatía. Weir y cols (118) mostraron una asociación entre los cambios en la membrana alveolo-capilar y la microangiopatía ocular (retinopatía y maculopatía). Innocenti y cols (112) en su trabajo detectaron que la DLCO estaba significativamente alterada en los pacientes con excreción de albúmina en orina aumentada, mientras que en el grupo de pacientes con retinopatía

o neuropatía autonómica diabética no se produjo ninguna modificación en los resultados de las pruebas de FP. Los autores concluyeron así que el descenso de DLCO puede ser considerado selectivamente asociado a nefropatía diabética. Schnack y cols (121) detectaron que la disfunción pulmonar es mayor en pacientes con microalbuminuria. Niranjan y cols (134) relacionan una menor DLCO con una mayor prevalencia de retinopatía, nefropatía y neuropatía. Por el contrario, Boulbou y cols (129) no encontraron correlación entre la alteración de la FP y la presencia de otras complicaciones crónicas de la diabetes entre sus pacientes.

Barta y cols (124) fueron los primeros que describieron en un paciente pediátrico con DM1 la presencia de contracturas articulares asociadas a la reducción de la CV pulmonar. Posteriormente, otros autores han sugerido que la limitación de la movilidad articular puede tener una influencia importante en la FP tanto en adultos (125,127) como en niños (126).

Estudios epidemiológicos más recientes han analizado las posibles asociaciones entre la espirometría simple y las complicaciones o duración de la diabetes. Así, Klein y cols (143,144), en un primer análisis midiendo el PEF, no encontraron asociación con la progresión de retinopatía, la incidencia de retinopatía proliferativa, edema macular, úlceras, amputación de extremidades inferiores o enfermedad cardiovascular en un análisis univariante. Sin embargo, el modelo multivariante que permitió el ajuste por sexo, edad e índice de masa corporal (IMC), mostró una asociación del PEF con la historia de enfermedad cardiovascular, HbA1c, enfermedad renal, úlceras o amputación de miembros inferiores y la supervivencia a 6 años.

En resumen, parece existir una relación entre las diferentes disfunciones pulmonares detectadas en los pacientes con DM1 y factores relacionados con la diabetes, como el tiempo de evolución de la enfermedad, su grado de control metabólico y las distintas complicaciones crónicas desarrolladas en algunos de los pacientes, pero se necesitan estudios más amplios para confirmarlo.

FUNCIÓN PULMONAR EN DIABETES MELLITUS: IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPEÚTICAS

Aunque hay estudios que confirman el deterioro de la FP y sugieren posibles mecanismos fisiopatológicos para explicar la misma, pocos de ellos evalúan las potenciales implicaciones clínicas de estas alteraciones. Sandler en el año 1990 (128), de acuerdo a los resultados de estudios previos en los que se objetivaron alteraciones de la FP, consideró que el pulmón se debería tener en cuenta como un órgano diana de la diabetes, señalando que las anomalías documentadas eran de grado leve-moderado y que las implicaciones clínicas de estos hallazgos no quedaban claramente definidas en términos de enfermedad respiratoria. Así, una disfunción pulmonar subclínica y asintomática en situación basal, podría ponerse de manifiesto en pacientes y/o ante eventualidades en las que las reservas pulmonares se encontraran limitadas o disminuidas, como podría ser el caso de pacientes con edades extremas, la altitud, el tabaquismo o una enfermedad pulmonar aguda y/o primaria.

Más recientemente, Goldman y cols (145) hicieron énfasis en las posibles limitaciones funcionales para la vida diaria atribuibles a la enfermedad pulmonar en pacientes adultos con diabetes. En este estudio están englobados pacientes con diabetes de distintas etiologías, fundamentalmente DM2 y, en menor número, pacientes con DM1. Para ellos, la experiencia clínica sugiere que los defectos pulmonares en pacientes con DM1 son insuficientes para causar una complicación pulmonar clínicamente significativa. Sin embargo, es posible que esta disfunción pueda predisponer, en parte, a la recurrencia de infecciones respiratorias que con frecuencia padecen los pacientes con DM1.

Los estudios DCCT (27) y EDIC (61) han puesto de manifiesto que el tratamiento intensivo de la DM1 con múltiples dosis de insulina es el tratamiento de elección para disminuir la hiperglucemia crónica y, con ello, evitar y/o retrasar la progresión hacia las complicaciones crónicas. Este tipo de tratamiento debe implantarse desde el inicio de la enfermedad en todas las edades, incluida la edad pediátrica. Con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes, se han estudiado y buscado desde hace años nuevas vías de administración de la insulina diferentes a la subcutánea, entre ellas, se encuentra la vía inhalada (146). A favor de esta vía estaría que el pulmón proporciona una gran superficie y un periodo prolongado de absorción, permitiendo alcanzar, rápidamente, el pico de insulina en plasma y consiguiendo su acción metabólica sin el efecto adverso de la inyección, con una mayor satisfacción por parte del paciente (147). Pero para obtener este efecto se precisa de una adecuada FP del paciente. Por otro lado, uno de los aspectos adversos de esta nueva vía de administración es que la insulina es un péptido que posee propiedades inmunogénicas, proinflamatorias y anabólicas que podría causar efectos secundarios. Todo ello obliga a un mejor conocimiento y una evaluación rutinaria de la FP en pacientes con DM1 desde el inicio de la enfermedad y durante su evolución, para determinar las posibles interacciones e interferencias de la alteración de la misma en el depósito y absorción de una teórica terapia con insulina inhalada.

En resumen, muchos de los resultados de los distintos estudios sobre FP en DM1 son discordantes y/o contradictorios, pero sugieren que el pulmón es un órgano diana de la enfermedad que se afectaría como consecuencia de la microangiopatía

diabética y por la alteración del tejido conectivo. Dicho en otras palabras, el abundante tejido conectivo y la amplia y difusa circulación microvascular del pulmón apoyan la idea de que éste pueda encontrarse afectado en la enfermedad, siendo un posible órgano diana de la DM1.

Todavía existen pocos estudios sobre la FP en adultos con DM1, siendo estos aún más escasos en la edad pediátrica. Por otro lado, no se ha demostrado el impacto clínico real de las alteraciones de la FP evidenciadas en la diabetes. Por lo tanto, es necesario ampliar los estudios en este campo para poder determinar si es necesario el estudio de la FP como parte del seguimiento y monitorización clínica rutinaria de estos pacientes. Además, la posibilidad futura de la administración de insulina por vía inhalada obliga a conocer con mayor profundidad la FP en estos enfermos.

De todo lo anteriormente expuesto se puede concluir que:

- La DM1 es una enfermedad crónica y multiorgánica, cuyas complicaciones afectan al tejido vascular y conectivo de distintos órganos. Teniendo en cuenta la amplia red vascular y el abundante contenido fibroso que componen el pulmón, éste podría ser un órgano diana de las complicaciones crónicas de la enfermedad.
- La evaluación de la FP en pacientes con DM1 es, en la actualidad, un campo poco conocido. Su estudio podría tener importantes implicaciones clínicas y terapéuticas. Así, un mejor conocimiento del pulmón, y más en concreto de la FP, podría servir como marcador precoz de dichas complicaciones. Además, si se definieran las características de su posible afectación, se podría llevar a cabo un seguimiento y control estrecho de la FP, lo que permitiría buscar mejores opciones terapéuticas para controlar la misma. Por el contrario, si se descartara la relación entre complicaciones de la DM1 y disfunción pulmonar, esta eventualidad favorecería continuar con los estudios que proponen la administración de insulina por vía inhalada.
- Además, de ser escasos los estudios sobre la FP en DM1, hay campos todavía no evaluados, como es la inflamación eosinofílica pulmonar.
- Así mismo, los estudios de FP en DM1 son también escasos en la edad pediátrica con resultados igualmente contradictorios, siendo la metodología para el estudio de la misma más compleja en este grupo de edad. La mayoría de las pruebas funcionales requiere una colaboración activa por parte del paciente para completarse con éxito y permitir la adecuada interpretación de los resultados. Por eso, algunas de las pruebas que componen el estudio completo de la FP no se realizan de forma rutinaria en este grupo de edad, pues no siempre se consigue la colaboración necesaria.

Así, el estudio de la FP en pacientes con DM1 en edad pediátrica es importante tanto para descartar o confirmar patología específica en el pulmón derivada de las complicaciones de la DM1, que hagan necesario o no realizar un seguimiento específico de la misma, como para conocer la funcionalidad de este órgano, pues algunas de las nuevas líneas de investigación en terapia insulínica trabajan en la administración de esta medicación por vía inhalada.

OBJETIVOS

Los objetivos del presente estudio son:

- 1) Estudiar y comparar la FP en niños y adolescentes con DM1 y en una población pediátrica control, empleando los valores predichos según sexo y talla y, también, ajustando los mismos teniendo en cuenta el estadio puberal.
- 2) Valorar la influencia del estadio puberal en la FP.

En el grupo de sujetos con DM1:

- 3) Valorar la repercusión del tiempo de evolución de la diabetes sobre la FP.
- 4) Analizar la repercusión del grado de control metabólico de la diabetes sobre la FP.
- 5) Analizar la posible relación entre parámetros analíticos de función renal, función hepática y perfil lipídico y la FP.

PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio ha sido llevado a cabo en las Unidades de Diabetes y Neumología del Servicio de Pediatría y el Laboratorio de Exploración Funcional Respiratoria del Servicio de Neumología del Hospital Universitario Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá de Henares, de Madrid.

Se trata de un estudio transversal, realizado entre los meses de Enero del 2007 y Junio del 2008, en pacientes con diagnóstico de DM1 con edades comprendidas entre 8 y 18 años y, por otro lado, en sujetos de una población control sana del mismo rango de edad. El proyecto del estudio fue aprobado y autorizado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario Ramón y Cajal. Los padres y/o tutores legales firmaron el consentimiento informado y los pacientes menores, pero mayores de 12 años, firmaron también el consentimiento informado para el menor maduro para participar en el estudio, una vez se les había explicado las características del mismo y las pruebas que se les iban a realizar.

Inicialmente se recogieron las características clínicas de los pacientes: edad, sexo, peso, talla, estadio puberal. Posteriormente, en el Laboratorio de Exploración Funcional Respiratoria del Servicio de Neumología, se realizaban los estudios de función respiratoria. En el caso del grupo de pacientes DM1, también se realizaron pruebas complementarias y estudio analítico para descartar complicaciones crónicas: exploración física minuciosa con toma de TA, estudio de función renal y hepática y perfil lipídico.

SUJETOS DEL ESTUDIO

1. Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1

Participaron en el estudio un total de 100 pacientes diagnosticados de DM1, en seguimiento en la Unidad de Diabetes Pediátrica del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid. Todos ellos con determinación de autoinmunidad pancreática positiva en el momento del diagnóstico de la enfermedad y con un periodo mínimo de evolución de la misma de un año, para excluir a aquellos que pudieran estar en un periodo de remisión de la diabetes.

Los pacientes estaban con tratamiento insulínico intensivo, régimen basal-bolus, bien con múltiples dosis de insulina subcutánea (análogos de insulina de acción prolongada y análogos de insulina de acción rápida preprandiales) con un total de 4 a 6 dosis diarias, o bien, con bomba de infusión subcutánea continua de insulina. Ninguno había necesitado ingreso hospitalario en los últimos 6 meses por descompensación metabólica en relación con su patología de base. Todos ellos fueron clínicamente evaluados en el momento del estudio para excluir enfermedades respiratorias agudas. No se incluyó a ningún paciente fumador, con enfermedad crónica del aparato respiratorio, con proceso agudo de la vía respiratoria ocurrido en las 4 semanas previas ni que estuviese recibiendo ningún tratamiento que pudiera alterar el estudio de la FP.

Todos los pacientes cumplían los criterios de inclusión predeterminados y no tenían ningún criterio de exclusión.

Criterios de inclusión:

1. Edad comprendida entre 8 y 18 años.
2. Diagnóstico de DM1 con una evolución clínica mínima de 1 año.
3. Ausencia de síntomas o signos clínicos de enfermedad pulmonar aguda en las cuatro semanas previas al inicio del estudio o de enfermedad crónica de aparato respiratorio.
4. Firma del consentimiento informado por parte de los padres y/o tutores y, en su caso, del consentimiento informado para el menor maduro mayor de doce años.

Criterios de exclusión:

1. Síntomas o signos clínicos de enfermedad pulmonar aguda en las cuatro semanas previas al inicio del estudio o de enfermedad crónica de aparato respiratorio.
2. Diagnóstico conocido de asma, atopia o sensibilización alérgica.
3. Diagnóstico previo de patología cardíaca.
4. Obesidad (IMC >2 desviaciones estándar (DE) para su edad y sexo).
5. Evidencia de enfermedad de tejido conectivo o limitación de la movilidad articular.
6. Cualquier trastorno locomotor o neuromuscular presente y/o antecedente del mismo.
7. Afectación renal distinta a la propia de la diabetes.
8. Pacientes fumadores.

Para el análisis posterior, se clasificaron a los enfermos en función del tiempo de evolución y del grado de control metabólico de la DM1.

En el análisis según el *tiempo de evolución* de la enfermedad, dado que es rara la aparición de complicaciones de la diabetes en los primeros 10 años de evolución, se dividieron los pacientes con DM1 en 2 subgrupos:

- Grupo con menos de 10 años de evolución.
- Grupo con 10 o más años de evolución.

Para el análisis según el *grado de control metabólico* de la enfermedad, determinado por medio de los niveles de HbA1c, se siguieron las recomendaciones de la ISPAD publicadas en la Guía-consenso del año 2009 (148), de forma que se establecieron dos subgrupos:

- Grupo con adecuado control metabólico: HbA1c menor de 7,5%.
- Grupo con inadecuado metabólico: HbA1c igual o mayor de 7,5%.

2. Grupo control

Integrado por un total de 77 niños y adolescentes considerados sanos, reclutados desde las consultas de Endocrinología Pediátrica del Hospital Universitario Ramón y Cajal después de la realización de una anamnesis y exploración física minuciosas.

Estos sujetos se parearon por edad y sexo con el grupo de pacientes con DM1. Ninguno de ellos refería afección respiratoria crónica y tampoco infección respiratoria aguda en las 4 semanas previas al estudio. Todos fueron clínicamente evaluados en el momento del mismo para excluir esta eventualidad. En el momento

del estudio no recibían tratamientos que pudieran influir en la FP ni eran fumadores ni tenían antecedentes de tabaquismo. En los sujetos controles se tuvieron en cuenta los mismos criterios de exclusión que en el grupo DM1.

En el grupo de controles únicamente se realizaron las pruebas del estudio de FP, sin realizarse ningún otro estudio complementario.

VARIABLES Y PROCEDIMIENTOS

1. Recogida de datos sociodemográficos y clínicos

En los pacientes con DM1 y, antes de la realización del estudio de FP, se recogieron los siguientes datos:

- Edad cronológica en el momento del estudio.
- Edad cronológica al diagnóstico de la diabetes.
- Años de evolución de la enfermedad.
- Sexo y estadio puberal.
- Datos antropométricos: peso, talla e IMC.
- Dosis de insulina: unidades/kilogramo/día (U/kg/d)
- Tensión arterial.
- Estudio de fondo de ojo.
- Exploración física neurológica.
- Valoración de la movilidad articular y/o presencia de dermatopatía diabética.

Entre los datos antropométricos: el peso, expresado en kilogramos (kg); la talla, expresada en centímetros (cm); el IMC [(peso/talla²), expresado en kilogramos/metro² (Kg/m²). Todos estos parámetros fueron analizados según los datos del Estudio Transversal Español realizado en el año 2008 (149) y expresados en DE para edad y sexo.

El desarrollo puberal fue evaluado de acuerdo a la escala de 5 estadios de Tanner (150), correspondiendo el estadio 1 a los sujetos impúberes, los estadios puberales intermedios (del 2 al 4) a los sujetos en fase de desarrollo puberal y el estadio 5 a aquellos púberes con caracteres sexuales completos.

Los valores de TA, expresados en milímetros de mercurio (mmHg), fueron analizados según las tablas de referencia de la Task Force on Blood Pressure Control in Children (151).

En todos los pacientes con DM1 se analizó la presencia de complicaciones crónicas de la diabetes.

1. Estudio oftalmológico. Los pacientes fueron evaluados en el Servicio de Oftalmología, donde se realizó oftalmoscopia directa para estudiar el fondo de ojo y descartar la presencia de retinopatía.
2. Estudio nefrológico. Se realizó analítica sanguínea y urinaria para la evaluación de la función renal. En este estudio se determinaron los niveles de creatinina, urea y el aclaramiento de creatinina. La presencia de nefropatía incipiente fue evaluada mediante la determinación de la microalbuminuria. Este análisis se llevó a cabo mediante la recogida de orina nocturna, durante un periodo de 8 horas en ausencia de síntomas de infección del tracto urinario, con urocultivo negativo, sin haber realizado ejercicio intenso el día previo y, en el caso de las niñas, fuera del periodo menstrual. Este análisis se realizó mediante técnica de inmunoensayo turbidimétrico, con el aparato Architect ci 16200 (Abbott, 2008, Chicago, USA). Se considera como normal un valor de microalbuminuria inferior a 20 microgramos/minuto (mcg/min) (152). Se define la presencia de microalbuminuria como la evidencia de niveles patológicos de albumina en orina en dos de tres orinas recogidas con intervalo de dos meses.

3. Estudio neurológico. Para descartar la presencia de neuropatía periférica diabética se realizó una exploración física específica con evaluación de los reflejos osteotendinosos y la sensibilidad fina en extremidades (153).
4. La presencia de limitación de la movilidad articular se evaluó según los criterios de Rosenbloom y colaboradores (154).

En el grupo control se recogieron los siguientes datos:

- Edad cronológica en el momento del estudio.
- Sexo y estadio puberal.
- Datos antropométricos: peso, talla e IMC.

La hoja de recogida de los datos epidemiológicos y clínicos se muestra en el Anexo 1.

2. Determinaciones analíticas

En el caso de los pacientes con DM1, se recogieron datos analíticos que evaluaban el grado de control metabólico de la enfermedad junto con la posible presencia de complicaciones crónicas secundarias a la diabetes, el perfil lipídico y las funciones hepáticas y renales. El estudio analítico no fue realizado en los controles.

2.1. Valoración del grado de control metabólico

Esta evaluación se realizó a través de la HbA1c, expresada en porcentaje (%), teniendo en cuenta el valor medio de HbA1c de los últimos 12 meses. El análisis de la HbA1c se llevó a cabo en suero, mediante técnica de cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico en fase de reserva, en el equipo ADAMS A1C HA-8160 (Arkray, 2004, Kyoto, Japón; Distribuidor Menarini, Madrid, España); valor normal $5,3 \pm 0,31\%$. Las determinaciones de HbA1c para definir el

grado de control metabólico se llevaron a cabo periódicamente, cada 2-3 meses, utilizando en el estudio el valor medio de las HbA1c del año previo a la realización del mismo.

2.2 Otros datos analíticos

- Función renal: determinada mediante los niveles de creatinina y de urea en suero, expresadas en mg/dL. Estos análisis se llevaron a cabo mediante técnica de calorimetría con picrato alcalino cinético y ureasa ultravioleta respectivamente, en el equipo ARCHITECT ci 16000 (Abbott). Se consideró que existía alteración renal si los niveles de creatinina y urea eran superiores a los valores de referencia teniendo en cuenta la edad de los sujetos.

- Función hepática: determinada mediante los niveles de glutámico oxalacético transaminasa (GOT), glutámico pirúvico transaminasa (GPT) y gamma glutamil transpeptidasa (GGT) en suero, expresados en unidades/litro (U/L). Estos análisis se llevaron a cabo para GOT mediante método NADH (p-5p) midiendo la oxidación de NADH en NAD (la GOT presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino L-aspartato a 2-oxo-glutarato, en presencia de piridoxal-5-fosfato, para formar oxalato y L-glutamato; el oxalato en presencia de NADH y malato deshidrogenasa se reduce a L-malato, reacción en la que NADH se oxida a NAD); para GPT mediante método FCC midiendo el índice de reducción (la GPT presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino de L-alanina a 2-oxoglutarato, en presencia de piridoxal-5-fosfato, para formar piruvato y L-glutamato; el piruvato en presencia de NADH y lactatodeshidrogenasa es reducido a L-lactato y el NADH se oxida a NAD); y para GGT mediante método G-glutamil-

carboxi-nitroanilida. Para todas ellas se utilizó el equipo ARCHITECT ci 16000 (Abbott). Se consideró que existía alteración hepática si los niveles de GOT, GPT y/o GGT eran superiores a 50, 40 y 30 U/L respectivamente.

- Metabolismo lipídico: determinado mediante los niveles de colesterol total, lipoproteína de baja densidad (LDL-colesterol), lipoproteína de alta densidad (HDL-colesterol) y triglicéridos en suero, expresados en miligramos/decilitro (mg/dL). Estos análisis se llevaron a cabo: para colesterol total mediante método enzimático y calorimetría (los ésteres de colesterol se hidrolizan por la colesteroesterasa en colesterol y ácidos grasos; el colesterol libre se oxida por la colesterooxidasa, formándose peróxido de hidrógeno que se mide por calorimetría); para LDL-colesterol por medición en detergente selectivo líquido; para HDL-colesterol con detergente acelerador específico; y para triglicéridos mediante método enzimático con glicerol-fosfato-oxidasa. Todas estas técnicas se llevaron a cabo en el equipo ARCHITECT ci 16000 (Abbot). Se consideró que existía alteración lipídica si los niveles de colesterol total eran superiores a 200 mg/dl, los de LDL-colesterol superiores a 130 mg/dl, los de HDL-colesterol inferiores a 40 mg/dl y/o los de triglicéridos superiores a 110 mg/dl.

La hoja de recogida de datos analíticos se muestra en el Anexo 2.

3. Estudio de la función pulmonar

En este estudio, la FP fue evaluada por medio de la espirometría forzada, la pletismografía corporal, la capacidad de difusión pulmonar de CO y la determinación del NOe.

Las distintas pruebas de FP se realizaron en cada sujeto con los mismos equipos y en la misma habitación, siempre por la mañana y fueron llevadas a cabo por dos técnicos que no conocían las hipótesis del estudio. Todas las pruebas de FP fueron llevadas a cabo de acuerdo con la *European Coal and Steel Community* (ECSC) (155). Los aparatos para la realización de espirometría, pletismografía, estudio de la capacidad de difusión de CO y determinación de NO, se calibraban de manera diaria antes de realizar el primer estudio.

Todos los valores de los estudios de espirometría y pletismografía fueron estandarizados y expresados inicialmente en forma de % sobre el valor predicho para la edad, el sexo y la talla, usando los valores de referencia de Zapletal para población infantil y adolescente (156) (Figura 6). Los valores del estudio de la capacidad de difusión de CO fueron estandarizados y expresados inicialmente en forma de % sobre el valor predicho para la edad, el sexo y la talla, usando los valores de referencia de Stam para niños (157) (Figura 7).

Además, en el presente estudio se completó el análisis de los resultados utilizando también el método de la corrección específica en función del estadio puberal de cada paciente. De esta manera, teniendo en cuenta el sexo, la talla y el estadio puberal de cada sujeto en el momento de realizar las pruebas de FP, los resultados fueron convertidos y expresados en forma de *SD-score* de acuerdo a las

tablas publicadas por Rosenthal y colaboradores (158,159) (Figuras 8a y 8b, 9a y 9b, 10a y 10b). Valores estandarizados de *SD-score* menores a -1,64, equivalentes a un percentil inferior al P5, fueron interpretados como patológicos.

$$SD\ score = \frac{Valor\ actual - valor\ predictivo}{DE\ poblacional}$$

Para aquellos parámetros de los que no se disponía de fórmula específica para la corrección por el estadio puberal (158,159), los resultados fueron expresados únicamente en forma de % del valor predicho para edad, sexo y talla según los criterios anteriormente referidos.

Como procedimiento común a todas las exploraciones funcionales pulmonares realizadas se tuvieron en cuenta y se anotaron los siguientes datos del medio y del sujeto a examinar: temperatura ambiente, presión barométrica, sexo, edad, talla y peso. Los valores reproducidos por los diferentes aparatos se ajustaron siempre a las variables anteriormente referidas.

3.1. Espirometría forzada

El estudio de espirometría forzada fue realizado mediante equipo MasterLab, modelo Compact Transfer (Erich Jaeger, Alemania) (Figura 11). Cada niño realizó al menos 3 curvas consecutivas, con espiraciones forzadas desde una situación de inspiración máxima, en posición sentado, con la cabeza recta y con diferencias entre cada una de las curvas en la VC no mayores del 5%. Se repitió la prueba hasta estar seguro de que se había conseguido el máximo esfuerzo respiratorio y se seleccionó

para el estudio la mejor de cada paciente. El protocolo de realización de la espirometría forzada se muestra en el Anexo 3.

Con la espirometría forzada determinamos las variables:

- **FVC**. Expresada en L, % respecto al valor predicho y *SD-score*.
- **FEV₁**. Expresado en L, % respecto al valor predicho y *SD-score*.
- **FEV₁/FVC**. Expresada en valor absoluto con su % y *SD-score*

Se consideró normal una espirometría con valores de la FVC mayores del 83% y de FVE₁ mayores del 80% de los valores predichos, con un cociente FVE₁/FVC mayor de 0,7 (70%). Además, se consideraron normales los valores estandarizados para estadio puberal mayores de -1,64 *SD-score*.

2.2. Pletismografía corporal

El estudio de pletismografía corporal fue realizado en equipo MasterLab, modelo Compact Body (Erich Jaeger, Alemania) (Figura 12) en posición sentado. Se realizaron un mínimo de 3 maniobras completas hasta tener diferencias menores del 5% entre ellas. El protocolo de realización de la pletismografía corporal se muestra en el Anexo 4.

Las variables estudiadas mediante la pletismografía fueron:

- **TLC**. Expresada en L, % respecto al valor predicho y *SD-score*.
- **RV**. Expresado en L, % respecto al valor predicho y *SD-score*.
- **RV/TLC**: relación porcentual entre RV y TLC. Expresada en %.
- **Raw**. Expresada en kPa*seg/L, % respecto valor predicho y *SD-score*.
- **sGaw**. Expresada en 1/kPa*seg.
- **ITGV**. Expresado en L y % valor predicho.

Se consideraron normales los valores de los parámetros analizados en la pletismografía cuando se encontraban en los intervalos de confianza determinados por Zapletal (156). Se consideraron normales los valores estandarizados para estadio puberal mayores de $-1,64$ *SD-score*.

3.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono

El estudio de DLCO fue realizado mediante el método de respiración única en equipo Masterlab, modelo Compact Transfer (Erich Jaeger, Alemania) (Figura 11) en posición sentado. La DLCO fue determinada asegurándose de que el volumen inspiratorio se encontraba dentro del 5% de la IVC obtenida de la curva de flujo-volumen. El protocolo de realización de la capacidad de difusión de CO se muestra en el Anexo 5.

Las variables estudiadas fueron:

- **DLCO**. Expresada en mmol/min/kPa, % valor predicho y *SD-score*.
- **VA**. Expresado en L y *SD-score*.
- **DLCO/VA**. Expresada en mmol/min/kPa/L y *SD-score*.

Se consideraron normales los valores de los parámetros de difusión pulmonar cuando el valor obtenido se encontraba entre los límites superior e inferior según la ecuación descrita por Stam (157). Se consideraron normales los valores estandarizados para estadio puberal mayores de $-1,64$ *SD-score*.

3.4. Determinación de óxido nítrico exhalado

Para la determinación de este parámetro se siguieron las recomendaciones de la *European Respiratory Society* (ERS) (160). Estando los sujetos en reposo previo y ambiente tranquilo, se registró el valor medio de 2 lecturas consecutivas realizadas

con una técnica correcta. La determinación del NOe se llevó a cabo con el aparato NIOX MINO Starter Kit[®] que emplea el Test kit para cada determinación (A Phadia company, Sweden Diagnostics S.L., España) utilizando el método de registro online en exhalación simple (Figura 13). El protocolo de realización de la determinación de NOe se muestra en el Anexo 6.

La variable estudiada fue:

- **NOe**. Expresado en partes por billón (ppb) = 10^{-9} , equivalente a nanolitros de NO por litro de aire (nL/L).

Los resultados del estudio de NOe fueron expresados en forma de valor absoluto, independientemente de la edad y el sexo. Valores superiores a 25 ppb se consideraron patológicos, ya que indican la presencia de inflamación eosinofílica. La hoja de recogida de datos del estudio de FP se muestra en el Anexo 7.

Figura 6.

Table 7. – Prediction equations for lung volumes according to COOK and HAMANN [58] (gas dilution method) and ZAPLETAL *et al.* [68] (body plethysmographic technique) recommended for use in children and adolescents

Volume	Equation	90% CI	95% CI	RSD
Gas dilution				
Boys				
TLC ml	$0.95 \cdot 10^{-3} \cdot H^{3.039}$	83–120	81–124	0.104
FRC ml	$0.125 \cdot 10^{-3} \cdot H^{3.298}$	77–130	73–137	0.148
RV ml	$0.162 \cdot 10^{-3} \cdot H^{3.099}$	64–156	59–170	0.239
Girls				
TLC ml	$1.698 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.909}$	76–132	72–140	0.157
FRC ml	$0.286 \cdot 10^{-3} \cdot H^{3.136}$	76–148	62–160	0.215
RV ml	$0.32 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.972}$	59–169	53–187	0.278
Plethysmography				
Boys				
TLC ml	$9.96 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.5698}$	90–111	88–113	0.064
FRC ml	$3.22 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.6523}$	87–116	84–119	0.088
RV ml	$21.06 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.1314}$	73–137	69–145	0.191
Girls				
TLC ml	$9.17 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.5755}$	87–115	85–118	0.083
FRC ml	$3.70 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.6149}$	82–123	78–127	0.124
RV ml	$21.06 \cdot 10^{-3} \cdot H^{2.1314}$	73–137	69–145	0.191
Boys and girls				
FRC%TLC*	45.6	36–55	34–57	5.7
RV%TLC*	21.7	12–31	11–33	5.7

Valores de referencia de Zapletal para el estudio de pletismografía corporal (156)

Figura 7.

$$\begin{aligned} \text{Boys: } D_{L,CO} &= 39.9 H^{2.45} \\ r &= 0.93 \quad \text{RSD of } \ln D_{L,CO} = 0.096 \quad (1) \\ D_{L,CO}/V_A &= 40.1 H^{-0.60} \\ r &= -0.50 \quad \text{RSD of } \ln(D_{L,CO}/V_A) = 0.107 \quad (2) \\ \text{Girls: } D_{L,CO} &= 41.3 H^{2.23} \\ r &= 0.90 \quad \text{RSD of } \ln D_{L,CO} = 0.108 \quad (3) \\ D_{L,CO}/V_A &= 43.9 H^{-0.84} \\ r &= -0.59 \quad \text{RSD of } \ln(D_{L,CO}/V_A) = 0.112 \quad (4) \end{aligned}$$

Valores de referencia de Stam para el estudio de la capacidad de difusión de monóxido de carbono (157)

Figura 8a.

Table 1 Calculation of the predicted mean of a spirometric variable using a linear equation of intercept A and slope B × standing height in cm. R² represents the variance predicted by the linear equation and D represents the standard deviation expressed as a fraction of the predicted mean. For worked example, see Appendix.

	Sex	Height	A	B	R ²	D
FEV ₁ (l)	M	<162.6	-2.780	0.03425	99	0.13
	M	>162.5	-5.108	0.0521	97	
	F	<152.6	-2.734	0.03316	99	0.136
	F	>152.5	-3.680	0.04112	93	
FVC (l)	M	<162.6	-3.619	0.0429	98	0.12
	M	>162.5	-7.038	0.0678	98	
	F	<152.6	-3.311	0.03918	99	0.139
	F	>152.5	-3.881	0.04512	92	
PEF (l/s)	M	<162.6	-5.98	0.073	98	0.18
	M	>162.5	-13.14	0.125	97	
	F	<152.6	-6.79	0.079	97	0.20
	F	>152.5	-3.94	0.064	68	
MEF ₅₀ (l/s)	M	<162.6	-2.91	0.040	96	0.24
	M	>162.5	-3.38	0.048	93	
	F	<152.6	-3.03	0.041	97	0.24
	F	>152.5	0.49	0.023	63	
MEF ₂₅ (l/s)	M	<162.6	-0.948	0.0158	87	0.43-0.0006 × Ht
	M	>162.5 ¹	0.218 ¹	0.00074 ¹	6	0.50 ¹
	F	<152.6	-0.807	0.015	79	0.56-0.0018 × Ht
	F	>152.5	-2.12	0.027	63	
PIF (l/s)	M	<162.6	-4.31	0.054	94	0.38-0.0012 × Ht
	M	>162.5	-7.96	0.085	95	
	F	<152.6	-5.14	0.061	99	0.47-0.0019 × Ht
	F	>152.5	-0.379	0.0326	74	
FEV/FVC	M		1.00	-0.001	83	0.012 + 0.0005 Ht
	F		1.04	-0.00098	47	0.08

FEV₁—forced expiratory volume in one second; FVC—forced vital capacity; PEF—peak expiratory flow; MEF₅₀, MEF₂₅—maximum expiratory flow at 50% and 25% of FVC; PIF—peak inspiratory flow.
¹This equation calculates the SD score based on the log₁₀ (MEF₂₅).

Figura 8b.

Table 3 Mean SD scores for each variable and pubertal stage for standing heights 15 cm above and below the discontinuity. Significant differences are marked where p < 0.05 (see footnote). 95% confidence limits for the difference between significant means are also shown. (For worked example, see Appendix.)

Pubertal stage	FEV ₁	FVC	PEF	MEF ₅₀	MEF ₂₅	PIF
Males 147.6–162.5 cm inclusive						
1	0.15*(^{-0.2,1.94})	0.14	0.6*(^{0.21,1.33})	0.38*(^{0.03,1.35})	0.33*(^{0.33,1.49})	0.67*(^{0.33,1.67})
2	0.07***	0.05	-0.1**	-0.33	0.09***	0.01**
3	-0.27	-0.16	-0.17	-0.31	-0.58	-0.33
4	-0.17	0.18	0.36	-0.28	-0.01	0.93††
5	Insufficient numbers					
Males 162.6–177.5 cm inclusive						
1	Insufficient numbers					
2	Insufficient numbers					
3	-1.83††(^{1.2,3.54})	-0.09	-1.17††(^{0.58,2.82})	-0.84††(^{0.1,2.44})	-2.14††(^{1.22,2.46})	-1.35††(^{0.34,2.84})
4	-0.35††	-0.24	-0.27	-0.23	-0.17	-0.1
5	0.54†††(^{0.42,1.36})	0.20†††(^{-0.04,0.96})	0.53†††(^{0.33,1.27})	0.43†††(^{0.18,1.14})	0.2†††(^{-0.1,0.84})	0.34†††(^{-0.03,0.91})
Females 137.6–152.5 cm inclusive						
1	-0.42	0.21	-1.12*(^{0.73,2.47})	-0.79*(^{0.48,2.26})	-0.33*(^{0.05,1.83})	-0.36
2	0.03	-0.2	0.12	0.33	0.53	-0.15
3	0.33	0.13	0.48	0.58	0.61	0.15
4	Insufficient numbers					
5	0.81	0.94	0.60	0.35	0.61	0.15
Females 152.6–167.5 cm inclusive						
1-5	No pubertal effect noted					

*(a,b)—Pubertal stage 1 differs from pubertal stage 3; ***(a,b)—pubertal stage 1 differs from pubertal stage 2; ***(a,b)—pubertal stage 2 differs from pubertal stage 3; †(a,b)—pubertal stage 3 differs from pubertal stage 5; ††(a,b)—pubertal stage 3 differs from pubertal stage 4; †††(a,b)—pubertal stage 4 differs from pubertal stage 5; (a,b)—95% confidence interval for the difference between the means tested. For definition of other abbreviations see footnote to table 1.

Tablas de cálculo de parámetros del estudio de espirometría forzada según estadio puberal por Rosenthal (158)

Figura 9a.

Table 1 Calculation of the predicted result for males using a linear equation of intercept A and slope B × standing height in cm. R² represents the percentage variance predicted by the linear equation and D represents the standard deviation as a fraction of the predicted result. (For worked example, see Appendix.)

	Height	A	B	R ²	D
TLCO (mmol/min/kPa)	<162.6	-3.99	0.070	98	0.043 + (0.0008 × Ht)
	>162.5	-19.0	0.173	93	
VA (l)	<162.6	-3.490	0.04357	97	0.11
	>162.5	-9.785	0.0867	97	
TLCO/VA (mmol/min/kPa/l)	<162.6	4.13	-0.013	81	0.11
	>162.5	2.10	0	93	
FRC (l)	<162.6	-1.716	0.02394	97	0.341 - (0.0012 × Ht)
	>162.5	-7.036	0.05918	96	
TLC (l)	<162.6	-3.828	0.04976	98	0.12
	>162.5	-10.648	0.09586	99	
RV (l)	<162.6	-0.283	0.00818	91	0.28
	>162.5	-3.905	0.03095	97	
Raw (kPa/l/s)	<162.6	0.634	-0.0026	36	0.65
	>162.5	0.36	-0.0012	69	

TLCO—carbon monoxide transfer factor; VA—accessible lung volume; FRC—functional residual capacity; TLC—total lung capacity; RV—residual volume; Raw—airways resistance.

Figura 9b.

Table 3 Mean SD scores for variables by pubertal stage in boys 162.6–175.5 cm in height

	Pubertal stage		
	3	4	5
TLCO	-1.16 ^{*(0.32, 2.36)}	0.18	0.30
VA	-2.48 ^{*(0.85, 3.59)}	-0.26	0.28 ^{**(-0.02, 1.0)}
KCO	-0.72	0.1	0.2
FRC	-1.90 ^{*(0.23, 2.95)}	-0.31	0.23
TLC	-1.93 ^{*(0.72, 3.02)}	-0.06	0.42 ^{**(-0.06, 1.02)}

^{*}(a,b) Significant difference (p < 0.05) between pubertal stages 3 and 4 and 95% confidence limits for the difference between the means; ^{**}(a,b) significant difference (p < 0.05) between pubertal stages 4 and 5 and the 95% confidence limits for the difference between the means. For definition of abbreviations see footnote to table 1.

Tablas de cálculo de parámetros del estudio de pletismografía corporal y capacidad de difusión de monóxido de carbono, para sujetos de sexo masculino, según estadio puberal por Rosenthal (159)

Figura 10a.

Table 2 Calculation of predicted results in females where A,B,C,E,F and G represent the coefficients of a fifth power fraction of the predicted result. (For worked example, see Appendix.)

	Height	A	B	C
TLCO (mmol/min/kPa)	110-175	-577.13	16.781	-0.1811017
VA (l)	110-175	-289.408	8.43755	-0.091267633
TLCO/VA (mmol/min/kPa/l)	110-175	4.14	-0.013	0
FRC (l)	110-175	-33.928	1.14780	-0.0136745
TLC (l)	110-175	-234.078	7.03067	-0.07802979
RV (l)	110-175	610.323	-20.91427	0.28586128
Raw (kPa/l/s)	110-175	0.7	-0.0031	0
(TLC - VA)/TLC	120-175	0.321	-0.00104	0

For definition of abbreviations see footnote to table 1.

Figura 10b.

polynomial, R² represents the variance explained by the regression equation, and D represents the standard deviation as a

E	F	G	R ²	D
0.0008636953	-1.5287 × 10 ⁻⁶	0	100	0.11
4.351045553 × 10 ⁻⁴	-7.649615 × 10 ⁻⁷	0	99	0.11
0	0	0	97	0.0068 + (0.00073 × Ht)
6.98227757 × 10 ⁻⁵	-1.2725216 × 10 ⁻⁷	0	99	0.17
3.8100528 × 10 ⁻⁴	-6.8597971 × 10 ⁻⁷	0	98	0.12
-1.94588828 × 10 ⁻³	6.594203 × 10 ⁻⁶	-8.8899 × 10 ⁻⁴	97	0.28
0	0	0	79	0.55
0	0	0	62	0.74 - (0.00286 × Ht)

Tablas de cálculo de parámetros del estudio de pletismografía corporal y capacidad de difusión de monóxido de carbono, para sujetos de sexo femenino, según estadio puberal por Rosenthal (1599)

Figura 11.



Aparato de espirometría forzada y determinación de capacidad de difusión de monóxido de carbono

Figura 12.



Aparato de pletismografía corporal

Figura 13.



Aparato de NOe

4. Análisis de los datos

El análisis descriptivo de los datos se realizó mediante el uso de las frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, y los valores de mediana y rango intercuartílico (percentil 25 – percentil 75) o rango global (mínimo – máximo) de cada parámetro, para variables cuantitativas.

Para la comparación de las distintas variables entre los grupos, y puesto que no pudo asumirse normalidad en las variables cuantitativas de la muestra, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas.

En el análisis bivalente se ha utilizado la prueba U de Mann-Whitney en el contraste de hipótesis de variables cuantitativas y la prueba de Chi Cuadrado (χ^2) o el estadístico exacto de Fisher para contrastes entre variables categóricas.

Para la comparación de variables cuantitativas entre más de dos grupos, se ha empleado la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Si se detectaba que al menos uno de los grupos es significativamente diferente a los demás, se aplicaban comparaciones dos a dos mediante la prueba U de Mann-Whitney para especificar entre qué grupos se hallaban las diferencias. Puesto que esto suponía un análisis de comparaciones múltiples, se aplicaba la corrección de Bonferroni.

Para analizar la asociación lineal entre dos variables cuantitativas, se ha realizado un análisis de correlación y el estadístico utilizado ha sido la Rho de Spearman.

Para analizar la asociación entre variables de FP y DM1, se han realizado varios modelos predictivos de regresión lineal múltiple. En cada modelo se ha introducido como variable dependiente una variable de FP, previa comprobación de

la asunción de la normalidad. Las variables dependientes analizadas fueron: *SD-score* FVC, *SD-score* FEV₁, *SD-score* TLC, *SD-score* VA y *SD-score* DLCO/VA. Como variables independientes se han introducido el tiempo de evolución de la enfermedad (años), los niveles de HbA1c (%), la dosis de insulina (U/kg/día) y los niveles microalbuminuria (mcg/minuto). La estrategia de modelización ha sido hacia atrás, de manera que se han ido eliminando del modelo aquellas variables que menos información aportaban, es decir, las que tenían un nivel de significación menor. Se ha realizado un diagnóstico de colinealidad según el método propuesto por Belsley para cada modelo máximo (161).

Un valor de “*p*” < 0,05 fue aceptado como nivel de significación estadística.

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS PC para Windows, versión 15.0.

5. Consideraciones éticas y legales

Antes de iniciar el estudio, el proyecto del mismo fue aprobado y autorizado por el CEIC del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid.

Todos los sujetos del estudio han sido tratados siguiendo las normas de Buena Práctica Clínica, de forma que no se han modificado los procedimientos de seguimiento clínico y analítico, así como ninguno de los procedimientos terapéuticos que se realizan de forma habitual en los pacientes diagnosticados de DM1 en la Unidad de Diabetes Pediátrica del Hospital Universitario Ramón y Cajal. No se precisó la recogida de información adicional, más allá de la que se recoge de forma rutinaria, y todos los datos fueron tratados con la más absoluta confidencialidad de acuerdo a las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica

15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. Sólo aquellos datos de la historia clínica relacionados con el estudio fueron objeto de comprobación. Esta comprobación se hizo por el investigador principal, responsable de garantizar la confidencialidad de todos los datos de las historias clínicas pertenecientes a los sujetos participantes en el estudio. Los datos recogidos para el estudio se identificaron mediante un código y solo el investigador principal podía relacionar los datos con el paciente y con su historia clínica.

La firma del consentimiento informado de los padres o tutores y, en su caso, del consentimiento informado del menor maduro mayor de doce años para formar parte del estudio se llevó a cabo una vez se había explicado el objetivo del mismo y las pruebas a realizar. El modelo de consentimiento de pacientes DM1 se muestra en el Anexo 8 y el de los sujetos control en el Anexo 9. Además de la información verbal sobre el estudio, a los pacientes y a los padres o tutores legales, se les entregaba una hoja informativa que explicaba de forma breve y sencilla en qué consistían cada una de las pruebas de FP a realizar. Esta hoja informativa se muestra en el Anexo 10.

RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Participaron en el estudio 177 niños y adolescentes, de los cuales 100 fueron pacientes con DM1 y 77 fueron controles sanos que cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión de los previamente definidos. Tanto los pacientes como sus padres o tutores legales fueron informados, por el investigador principal y/o colaboradores, de las características y objetivos del estudio, aceptaron de forma voluntaria la participación en el mismo y firmaron el consentimiento informado, y los menores mayores de 12 años el consentimiento informado para el menor maduro.

Globalmente, la mediana de la edad de los sujetos fue de 13 años (rango 10,6 - 14,7) de los cuales el 56% fueron de sexo femenino. El 23% de ellos eran impúberes en el momento del estudio y el 77% púberes (49% en periodo de pubertad y 28% postpuberales). Las medianas de la talla y del IMC eran de 0,05 DE (rango -0,8 – 0,75) y -0,24 DE (rango -0,72 – 0,33), respectivamente.

1.1. Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1

Los 100 pacientes con diagnóstico de DM1 tenían edades comprendidas entre los 8 y 18 años, con una mediana de edad de 13,35 años y el 53% eran de sexo femenino. Con respecto al estadio puberal, el 23% eran impúberes y el 77% púberes (42% en periodo de pubertad y 35% postpuberales).

Las características epidemiológicas y clínicas globales de los pacientes con DM1 se encuentran detalladas en la Tabla 2.

En el estudio clínico y analítico para determinar la presencia o no de complicaciones crónicas relacionadas con la DM1, ningún paciente presentaba signos de retinopatía, nefropatía ni neuropatía diabéticas. Únicamente un paciente presentó una determinación elevada de microalbuminuria de forma aislada en la muestra recogida coincidiendo con el estudio de FP, pero en otras dos muestras posteriores no se confirmó dicha alteración. Todos los pacientes tuvieron cifras normales de TA. En ningún caso se detectó limitación de la movilidad articular.

Según el *tiempo de evolución de la enfermedad*, los pacientes con DM1 se agruparon de la siguiente forma (Figura 14):

- Grupo de menos de 10 años de evolución: n= 82 (82%)
- Grupo de 10 o más años de evolución: n= 18 (18%)

Los pacientes con menor tiempo de evolución de la enfermedad tuvieron una edad menor en el momento del estudio y una mayor edad en el momento del diagnóstico de la DM1. No se detectaron otras diferencias estadísticamente significativas en el resto de variables clínicas analizadas.

Las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con DM1 en función del tiempo de evolución de la enfermedad se encuentran detalladas en la Tabla 3.

Según el *grado de control metabólico de la enfermedad*, los pacientes con DM1 se agruparon de la siguiente forma (Figura 15):

- Grupo con adecuado control metabólico: n= 73 (73%)
- Grupo con inadecuado control metabólico: n= 27 (27%)

En este análisis, los pacientes con mejor control metabólico eran más jóvenes, sin encontrar otras diferencias estadísticamente significativas; sí una tendencia a un menor IMC y a menor tiempo de evolución de enfermedad en los pacientes con adecuado control metabólico.

Las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con DM1 en función del grado de control metabólico de la enfermedad se encuentran detalladas en la Tabla 4.

Según el *desarrollo puberal*, los pacientes con DM1 se agruparon de la siguiente forma:

- Grupo “*impúber*”: n= 23 (23%)
- Grupo “*púber*”: n= 42 (42%)
- Grupo “*postpúber*”: n= 35 (35%)

En este análisis, los pacientes impúberes tuvieron una menor edad, un menor tiempo de evolución de enfermedad y un menor IMC.

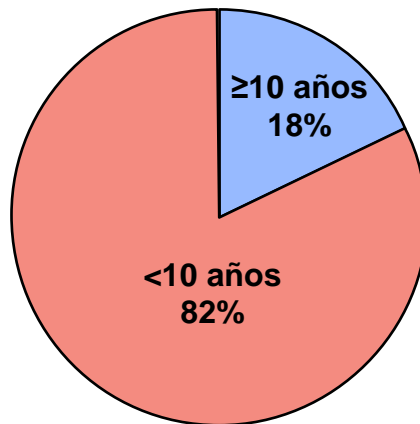
En un análisis simplificado en 2 grupos:

- Grupo “*impúber*”: n= 23 (23%)
- Grupo “*púber*”: n= 77 (77%)

En este análisis, los pacientes impúberes tenían, además, una menor edad al diagnóstico de la DM1.

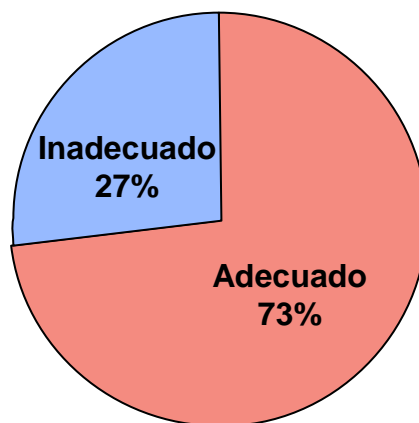
Las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con DM1 en función del grado de desarrollo puberal se encuentran detalladas en las Tablas 5a y 5b.

Figura 14.



Distribución del grupo DM1 en función del tiempo de evolución de enfermedad

Figura 15.



Distribución del grupo DM1 en función del grado de control metabólico

Tabla 2. Características generales de los pacientes DM1

	Mediana	Rango intercuartílico	Rango (min-max)
Edad (años)	13,35	11 – 15,35	8 - 18
Edad al diagnóstico (años)	7,04	4,6 – 9,53	0,6 – 14,5
Talla (DE)	0,38	-0,30 – 0,90	-1,78 – 2,11
IMC (DE)	-0,28	-0,69 – 0,26	-1,48 – 1,9
Tiempo de evolución (años)	6,17	2,75 – 8,98	1 – 16,6
HbA1c (%)	7,08	6,7 – 7,57	5,5 – 11,18
Dosis insulina (U/kg/día)	0,85	0,66 – 1,01	0,40 – 1,63

IMC: índice de masa corporal, DE: desviaciones estándar, HbA1c: hemoglobina glicosilada, U/kg/día: unidades/kilo/día, min: mínimo, max: máximo

Tabla 3. Características de los pacientes DM1 según el tiempo de evolución de la enfermedad

Tiempo de evolución	Menos de 10 años	Más de 10 años	"p"
Pacientes [% (n)]	82% (82)	18% (18)	---
Edad (años)	12,9 (10,5 – 14,7)	15,2 (13,3 – 17,7)	0,002
Edad de diagnóstico (años)	7,6 (6,0 – 10,1)	3,6 (1,2 – 4,6)	0,000
Sexo (femenino, %)	52,4%	55,6%	0,510
Talla (DE)	0,3 (-0,3 – 1,0)	0,2 (-0,5 – 0,7)	0,467
IMC (DE)	-0,3 (-0,7 – 0,2)	-0,1 (-0,3 – 0,2)	0,317
Impúberes [% (n)]	26,8,1% (22)	5,6% (1)	0,042
Años de evolución	4,4 (2,2 – 7,5)	11,8 (10,1 – 14,1)	0,000
HbA1c (%)	7,0 (6,6 – 7,5)	7,2 (7,0 – 8,2)	0,058
Buen control metabólico [% (n)]	74,4% (61)	66,7% (12)	0,561
Dosis insulina (U/kg/día)	0,8 (0,6 – 1,0)	0,8 (0,6 – 0,9)	0,686

IMC: índice de masa corporal, DE: desviaciones estándar, HbA1c: hemoglobina glicosilada, Buen control metabólico: HbA1c \leq 7%, U/kg/día: unidades/kilo/día

Datos expresados en mediana, rango intercuartílico y porcentajes

Tabla 4. Características de los pacientes DM1 según el grado de control metabólico

Control metabólico	Adecuado control	Inadecuado control	"p"
Pacientes [% (n)]	73% (73)	27% (27)	---
Edad (años)	13,0 (10,7 – 14,7)	14,6 (11,2 – 17,0)	0,027
Edad al diagnóstico (años)	6,9 (3,9 – 9,9)	7,3 (6,0 – 9,0)	0,715
Sexo (femenino, %)	52,2%	53,7%	0,956
Talla (DE)	0,3 (-0,3 – 0,8)	0,4 (-0,1 – 1,1)	0,529
IMC (DE)	-0,3 (-0,8 – 0,2)	-0,1 (-0,3 – 0,4)	0,072
Impúber [% (n)]	26,1% (12)	20,4% (11)	0,795
Tiempo de evolución (años)	4,9 (2,5 – 8,8)	7,9 (3,4 – 9,2)	0,156
HbA1c (%)	6,9 (6,5 – 7,2)	7,8 (7,6 – 8,7)	0,000
Dosis insulina (U/kg/día)	0,8 (0,6 – 1,0)	0,8 (0,7– 1,0)	0,437

IMC: índice de masa corporal, DE: desviaciones estándar, HbA1c: hemoglobina glicosilada, adecuado control metabólico: HbA1c <7,5%, inadecuado control metabólico: HbA1c ≥7,5% U/kg/día: unidades/kilo/día
 Datos expresados en mediana, rango intercuartílico y porcentajes

Tabla 5. Características de los pacientes DM1 según el desarrollo puberal

Tabla 5a. Clasificado en tres grupos

E. Puberal	Impúber	Púber	Postpúber	"p"
Pacientes [% (n)]	23% (23)	42% (42)	35% (35)	---
Edad (años)	9,5 (8,5 – 10)	13 (11,9 – 13,6)	15,7 (15,1 – 17,2)	0,000
Edad de diagnóstico (años)	6,4 (3,3 – 7,8)	7,0 (4,6 – 10,1)	7,4 (5,2 – 11,1)	0,109
Talla (DE)	0,1 (-0,6 – 0,6)	0,4 (-0,3 – 1,0)	0,5 (-0,1 – 1,0)	0,472
IMC (DE)	-0,6 (-0,9 – -0,3)	-0,1 (-0,6 – 0,4)	-0,0 (-0,3 – 0,4)	0,001
Tiempo de evolución (años)	3,3 (2,0 – 4,8)	5,6 (2,2 – 8,8)	8,5 (4,3 – 11,7)	0,000
HbA1c (%)	6,9 (6,7 – 7,4)	7,0 (6,5 – 7,3)	7,2 (6,7 – 7,7)	0,259
Adecuado control metabólico [% (n)]	52,2% (12)	(52,4% (22)	34,3% (12)	0,226
Dosis insulina (U/kg/día)	0,7 (0,6 – 0,8)	0,8 (0,6 – 1,0)	0,8 (0,7 – 1,0)	0,262

Tabla 5b. Clasificado en dos grupos

E. Puberal	Impúber	Púber	"p"
Pacientes [% (n)]	23% (23)	77% (77)	---
Edad (años)	9,5 (8,5 – 10)	14,5 (12,8 – 15,6)	0,000
Edad de diagnóstico (años)	6,4 (3,3 – 7,8)	7,3 (4,9 – 10,2)	0,045
Talla (DE)	0,1 (-0,6 – 0,6)	0,4 (-0,3 – 1)	0,233
IMC (DE)	-0,6 (-0,9 – -0,3)	-0,1 (-0,5 – 0,4)	0,000
Tiempo de evolución (años)	3,3 (2,0 – 4,8)	7,2 (3,3 – 9,3)	0,001
HbA1c (%)	6,9 (6,7 – 7,4)	7,1 (6,6 – 7,6)	0,489
Adecuado control metabólico [% (n)]	52,2% (12)	44,2% (34)	0,634
Dosis insulina (U/kg/día)	0,7 (0,6 – 0,8)	0,8 (0,7 – 1,0)	0,086

IMC: índice de masa corporal, DE: desviaciones estándar, HbA1c: hemoglobina glicosilada, adecuado control metabólico: HbA1c<7,5%, U/kg/día: unidades/kilo/día
 Datos expresados en mediana, rango intercuartílico y porcentajes

1.2. Grupo control

Participaron en el estudio un total de 77 niños y adolescentes como controles, con edades comprendidas entre los 8 y 18 años y una mediana de edad de 12,40 años. El 59,7% eran sujetos de sexo femenino, el 22,1% impúberes y el 77,49% púberes (58,4% en periodo de pubertad y 19,5% postpuberales) en el momento del estudio.

Las características generales del grupo control se encuentran detalladas en la Tabla 6.

Tabla 6. Características generales del grupo control

	Mediana	Rango intercuartílico	Rango
Edad (años)	12,40	10,6 – 14,30	8 – 18
Talla (DE)	-0,50	-1,80 – 0,39	-2,0 – 1,9
IMC (DE)	-0,20	-0,78 – 0,35	-1,8 – 1,5

DE: desviaciones estándar

1.3. Comparación entre ambos grupos

Al comparar las características generales entre ambos grupos, no se detectaron diferencias en lo referente a la edad, el sexo, el estadio puberal ni el IMC. Sin embargo, en relación con la talla, el grupo control tenía una talla significativamente menor que el grupo con DM1, que podría estar en relación con que una parte de los sujetos del grupo control eran niños y adolescentes seguidos por talla baja familiar no patológica.

Los resultados del estudio comparativo entre ambos grupos se encuentran detallados en la Tabla 7.

Tabla 7. Comparación de características generales entre el grupo de pacientes con DM1 y el grupo control

Grupo	DM 1	CONTROL	"p"
Pacientes (n)	100	77	---
Edad (años)	13,35 (11 – 15,3)	12,40 (10,6 – 14,3)	0,054
Mujeres [n (%)]	53 (53%)	46 (59,7%)	0,371
Talla (DE)	0,38 (-0,3 – 0,9)	-0,50 (-1,2 – 0,3)	0,000
IMC (DE)	-0,28 (-0,6 – 0,2)	-0,20 (-0,7 – 0,3)	0,664
Impúber [n (%)]	23 (23%)	17 (22,1%)	0,884

IMC: índice de masa corporal, DE: desviaciones estándar
Datos expresados en mediana, rango intercuartílico y porcentajes

2. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN PULMONAR

Durante la realización de las distintas pruebas del estudio no se produjeron incidencias significativas en ningún caso, aunque, debido a problemas técnicos y/o personales, no se pudieron completar la totalidad de las pruebas que componían la evaluación de la FP en todos los pacientes. Los casos en los que no se pudo completar el estudio son los siguientes:

- En el grupo DM1: no se pudo valorar por técnica inadecuada la espirometría forzada de 8 pacientes, la pletismografía corporal de 11 y el estudio de la capacidad de difusión de CO de 21. El estudio del NOe no se pudo realizar en 22 enfermos por problemas con la disponibilidad del aparato.

- En el grupo control: no se pudo valorar por técnica inadecuada la espirometría forzada de 6 sujetos, la pletismografía corporal de 10 y el estudio de la capacidad de difusión de CO de 15. El estudio del NOe no se pudo realizar en 18 sujetos por problemas con la disponibilidad del aparato.

2.1. COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO CON DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y EL GRUPO CONTROL

Este primer análisis compara los resultados del estudio de FP de los pacientes con DM1 con los del grupo control de forma global.

2.1.1. Espirometría forzada

En comparación con el grupo control, los pacientes con DM1 tuvieron un valor mayor de *SD-score* ajustado según el estadio puberal para el cociente FEV₁/FVC. En el resto de parámetros espirométricos ajustados según el estadio puberal, se detecta una tendencia a valores menores para la FVC como para el FEV₁, pero sin significación estadística.

Por otro lado, aunque las diferencias son pequeñas y no estadísticamente significativas, los valores expresados en % sobre el valor predicho para la FVC y el FEV₁ son ligeramente menores y levemente mayor el cociente FEV₁/FVC en los pacientes con DM1 frente a los sujetos control.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 8 y en la Figura 16.

2.1.2. Pletismografía corporal

En comparación con el grupo control, los pacientes con DM1 tuvieron un valor menor para las Raw del *SD-score* ajustado según el estadio puberal. Se detectó una tendencia a valores mayores de la TLC y el RV ajustados según el estadio puberal sin significación estadística.

Analizando los valores expresados en % sobre el valor predicho hay una tendencia sin significación estadística a valores mayores de la TLC, el RV y

cociente RV/TLC en el grupo DM1, siendo menores los valores de las Raw y del ITGV.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 9 y en la Figura 17.

2.1.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono

En el grupo de los pacientes con DM1, se objetivó una tendencia a valores inferiores del *SD-score* ajustado según el estadio puberal del DLCO y, sobre todo de la VA, con tendencia a valores superiores del *SD-score* del cociente DLCO/VA.

Expresando los valores en % sobre el valor predicho, el grupo de pacientes DM1 tuvo un DLCO significativamente mayor que los controles.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 10.

2.1.4. Óxido nítrico exhalado

No se detectaron diferencias significativas entre los dos grupos en este análisis comparativo; pero sí, una tendencia a un valor mayor de NOe en el grupo de pacientes con DM1.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 11.

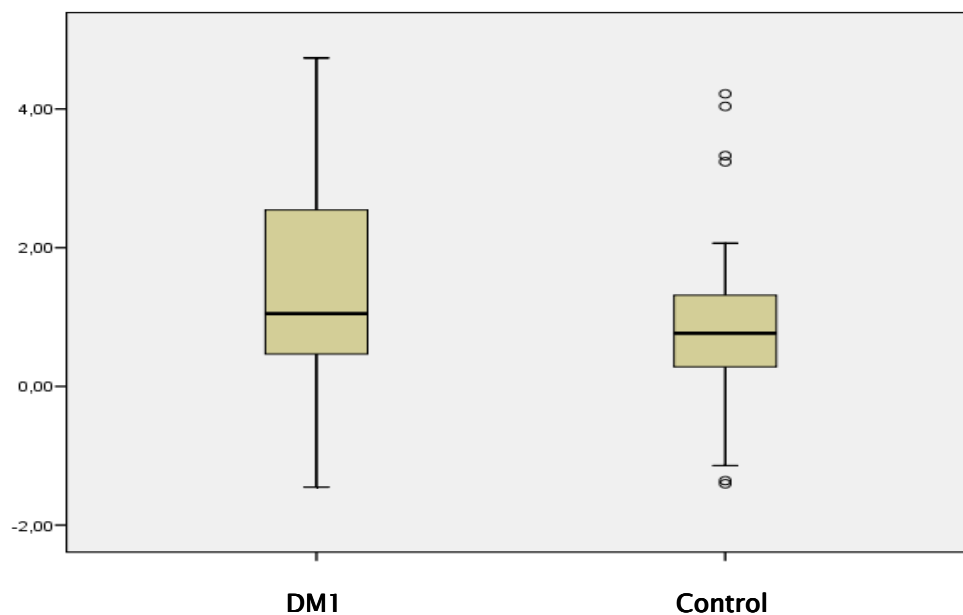
Tabla 8. Comparación de los resultados de los valores de la espirometría forzada entre DM1 y controles

Grupo	DM 1	CONTROL	"p"
FVC (SD-score)	-0,23 (-0,9 – 0,3)	-0,14 (-0,7 – 0,3)	0,804
FVC (% valor predicho)	96,6 (87,3 – 106,2)	106,0 (99,8 – 113,8)	0,858
FEV ₁ (SD-score)	0,18 (-0,5 – 0,7)	0,41 (-0,2 – 1,0)	0,230
FEV ₁ (% valor predicho)	105,2 (95,2 – 115,2)	106,0 (99,8 – 113,8)	0,505
FEV ₁ /FVC (SD-score)	1,05 (0,4 – 2,5)	0,76 (0,2 – 1,3)	0,037
FEV ₁ /FVC (% valor predicho)	94,5 (89,7 – 105,1)	93,8 (89,8 – 98,6)	0,223

FVC: capacidad vital forzada, FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Figura 16.

SD-score FEV₁/FVC



Comparación de SD-score ajustado según estadio puberal del cociente FEV₁/FVC entre DM1 y controles

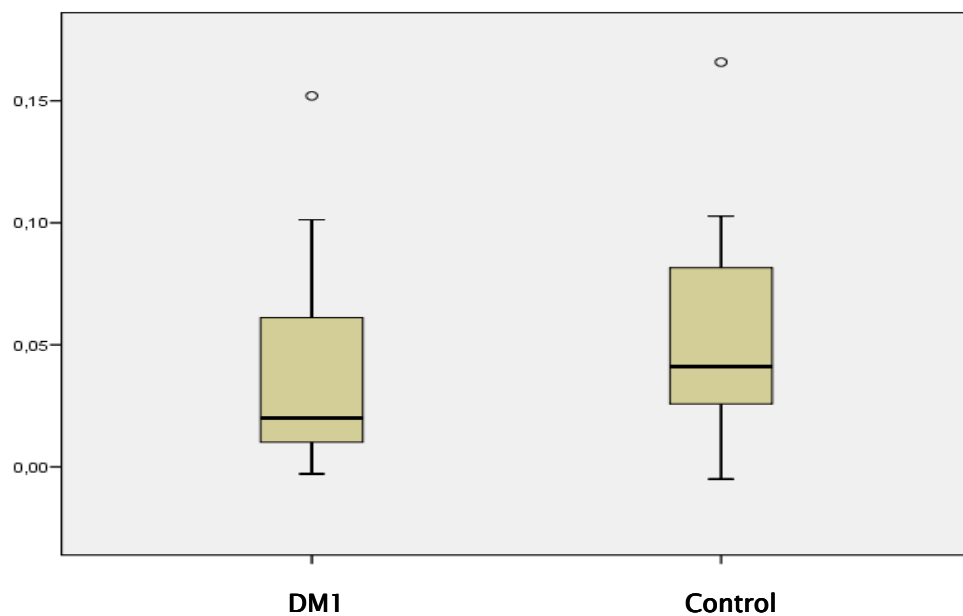
Tabla 9. Comparación de los resultados de los valores de la pletismografía corporal entre DM1 y controles

Grupo	DM 1	CONTROL	"p"
TLC (SD-score)	1,30 (0,2 – 2,3)	1,17 (0,2 – 2,7)	0,748
TLC (% valor predicho)	109,3 (99,1 – 118,4)	107,3 (99,8 – 114,2)	0,396
RV (SD-score)	-0,60 (-3,5 – 1,5)	-3,56 (-3,5 – 0,7)	0,546
RV (% valor predicho)	159,6 (143,6 – 181,3)	156,4 (126,0 – 179,9)	0,152
RV/TLC (% valor predicho)	147,9 (133,8 – 159,7)	139,4 (124,2 – 157,8)	0,129
Raw (SD-score)	0,02 (0,00 – 0,06)	0,04 (0,02 – 0,08)	0,023
Raw (% valor predicho)	110,5 (93,5 – 137,3)	122,3 (100,4 – 139,9)	0,244
sGaw (valor absoluto)	1,43 (1,1 – 1,6)	1,31 (1,1 – 1,5)	0,197
ITGV (% valor predicho)	105,1 (95,7 – 120,0)	106,8 (95,1 – 122,8)	0,743

TLC: capacidad pulmonar total, RV: volumen residual, Raw: resistencia (kPa*seg/L), sGaw: conductancia específica (1/kPa*seg), ITGV: volumen de gas intratorácico expresado en litros (L)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Figura 17.

SD-score Raw



Comparación de SD-score ajustado según estadio puberal de las Raw entre DM1 y controles

Tabla 10. Comparación de los resultados de los valores de la capacidad de difusión de monóxido de carbono entre DM1 y controles

Grupo	DM 1	CONTROL	"p"
DLCO (SD-score)	0,32 (0,0 – 0,4)	0,67 (0,0 – 1,3)	0,602
DLCO (% valor predicho)	124,2 (115,5 – 139,2)	118,0 (109,6 – 132,8)	0,024
VA (SD-score)	-0,96 (-1,1 – -0,6)	0,31 (-1,0 – 1,7)	0,433
DLCO/VA (SD-score)	0,16 (-0,6 – 1,0)	-0,09 (-0,7 – 0,6)	0,173

DLCO: capacidad pulmonar de difusión de monóxido de carbono, VA: volumen alveolar expresado en litros (L)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 11. Comparación de los resultados de los valores de Óxido Nítrico exhalado entre DM1 y controles

Grupo	DM 1	CONTROL	"p"
NOe (valor absoluto)	22 (16 – 28)	18 (14 – 22)	0,076

NOe: valores de óxido nítrico exhalado expresado en partes por billón (ppb)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

2.2. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 SOBRE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR

Según el tiempo de evolución de la enfermedad, el grupo más numeroso era el de los pacientes con menor tiempo de evolución, con un 82% de los enfermos.

2.2.1. Espirometría forzada

Comparando los grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en este punto, ni expresando los datos en *SD-score* ajustados según el estadio puberal ni en % del valor predicho.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 12.

2.2.2. Pletismografía corporal

En este punto, tampoco se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

La tendencia de los valores de *SD-score* ajustado según estadio puberal para la TLC, el RV y las Raw fue hacia valores menores en el grupo de mayor tiempo de evolución de la enfermedad.

Analizando los valores expresados en % sobre el valor predicho, la tendencia a valores menores del RV, el cociente RV/TLC, y el ITGV se obtuvo también en el grupo de mayor tiempo de evolución de la enfermedad.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 13.

2.2.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono

En el caso del estudio de la DLCO tampoco hubo diferencias significativas entre los grupos.

Se objetiva una tendencia a valores superiores de *SD-score* ajustado según estadio puberal de la DLCO, el VA y del cociente DLCO/VA en el grupo de mayor tiempo de evolución.

Expresando los valores en % sobre el valor predicho, también en el grupo de pacientes con 10 o más años de evolución de la enfermedad se objetiva una tendencia a un valor mayor de la DLCO con respecto al otro grupo.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 14.

2.2.4. Óxido nítrico exhalado

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en este análisis; los valores fueron muy similares entre los grupos de pacientes con distintos años de evolución de DM1.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 15.

Tabla 12. Comparación de los resultados de los valores de la espirometría forzada según el tiempo de evolución de enfermedad en el grupo DM1

Tiempo de evolución	Menos de 10 años	Más de 10 años	"p"
FVC (SD-score)	-0,23 (-0,9 – 0,3)	0,01 (-1,0 – 0,4)	0,734
FVC (% valor predicho)	96,1 (87,0 – 106,0)	100,3 (90,8 – 110,4)	0,400
FEV ₁ (SD-score)	0,15 (-0,5 – 0,7)	0,31 (-0,5 – 0,8)	0,696
FEV ₁ (% valor predicho)	104,1 (95,0 – 112,3)	107,0 (98,0 – 118,2)	0,313
FEV ₁ /FVC (SD-score)	1,1 (0,4 – 2,7)	0,9 (0,3 – 1,7)	0,528
FEV ₁ /FVC (% valor predicho)	109,5 (105,0 – 113,7)	109,5 (103,7 – 114,1)	0,901

FVC: capacidad vital forzada, FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 13. Comparación de los resultados de los valores de la pletismografía corporal según el tiempo de evolución de enfermedad en el grupo DM1

Tiempo de evolución	Menos de 10 años	Más de 10 años	"p"
TLC (SD-score)	1,39 (0,4 – 2,4)	0,90 (-0,7 – 1,8)	0,327
TLC (% valor predicho)	108,7 (99,3 – 118,4)	110,4 (97,3 – 121,9)	0,767
RV (SD-score)	-0,59 (-3,5 – 1,5)	-3,56 (-3,5 – 1,2)	0,500
RV (% valor predicho)	160,8 (144,8 – 180,3)	157,5 (138,9 – 185,5)	0,996
RV/TLC (% valor predicho)	149,0 (134,5 – 160,4)	144 (133,2 – 158,7)	0,764
Raw (SD-score)	0,02 (0,01 – 0,06)	0,01 (0,00 – 0,03)	0,220
Raw (% valor predicho)	110,5 (95,4 – 137,3)	108,7 (84,0 – 147,2)	0,500
ITGV (% valor predicho)	105,1 (97,4 – 124,5)	101,5 (90,3 – 124,5)	0,792

TLC: capacidad pulmonar total, RV: volumen residual, Raw: resistencia (kPa*seg/L), ITGV: volumen de gas intratorácico expresado en litros (L)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 14. Comparación de los resultados de los valores de la capacidad de difusión de monóxido de carbono según el tiempo de evolución de enfermedad en el grupo DM1

Tiempo de evolución	Menos de 10 años	Más de 10 años	"p"
DLCO (SD-score)	0,32 (-0,0 – 0,3)	0,45 (0,4 – 0,5)	0,275
DLCO (% valor predicho)	123,0 (114,7 – 139,3)	131,1 (123,8 – 139,3)	0,208
VA (SD-score)	-1,01 (-1,6 – -0,5)	-0,72 (-1,1 – 0,4)	0,186
DLCO/VA (SD-score)	0,14 (-0,7 – 1,0)	0,43 (-0,2 – 1,3)	0,566

DLCO: capacidad pulmonar de difusión de monóxido de carbono, VA: volumen alveolar expresado en litros (L): Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 15. Comparación de los resultados de los valores de óxido nítrico exhalado según el tiempo de evolución de enfermedad en el grupo DM1

Tiempo de evolución	Menos de 10 años	Más de 10 años	"p"
NOe (valor absoluto)	21 (16 – 28)	20 (13,7 – 29,5)	0,913

NOe: valores de óxido nítrico exhalado expresado en partes por billón (ppb)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

2.3. ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DEL GRADO DE CONTROL METABÓLICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 SOBRE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR

En este análisis, globalmente el grado de control metabólico de los pacientes era bueno, con una mediana de HbA1c de 7,0% (6,7% - 7,5%). Sólo el 10% de los pacientes tenían una HbA1c superior a 8%.

Las características generales de los pacientes en función del grado de control metabólico quedaron detalladas en la Tabla 4.

2.3.1. Espirometría forzada

Los pacientes con inadecuado control metabólico tenían un valor menor de FEV₁/FVC expresado en % sobre el valor predicho. No se detectaron otras diferencias significativas analizando los datos con respecto al control metabólico.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 16.

2.3.2. Pletismografía corporal

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados del estudio de la pletismografía corporal.

Analizando los valores de *SD-score* ajustados por estadio puberal se detectó una tendencia en el grupo de control adecuado a valores mayores de la TLC, del RV y de las Raw.

En el análisis de los valores expresados en % sobre el valor predicho, se objetivaron tendencias en el grupo de adecuado control metabólico a valores de ITGV y Raw mayores y menores de TLC, RV y relación RV/TLC.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 17.

2.3.3. Capacidad de difusión de monóxido de carbono

En el análisis de la capacidad de difusión pulmonar tampoco hubo diferencias significativas entre los distintos subgrupos.

En el grupo con peor control metabólico se objetivó una tendencia a valores inferiores de *SD-score* ajustado según estadio puberal del DLCO y del VA y superiores del cociente DLCO/VA.

Expresando los valores en % sobre el valor predicho, el grupo de pacientes con inadecuado control tuvo una tendencia a valores mayores de DLCO.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 28.

2.3.4. Óxido nítrico exhalado

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos en este análisis.

Los resultados se muestran detalladamente en la Tabla 19.

Tabla 16. Comparación de los resultados de los valores de la espirometría forzada según el grado de control metabólico en pacientes con DM1

Control metabólico	Adecuado control	Inadecuado control	"p"
FVC (SD-score)	-0,29 (-1,1 – 0,4)	0,01 (-0,4 – 0,3)	0,353
FVC (% valor predicho)	93,6 (86,0 – 105,6)	102,4 (93,6 – 108,3)	0,114
FEV ₁ (SD-score)	0,29 (-0,6 – 0,8)	0,09 (-0,4 – 0,6)	0,769
FEV ₁ (% valor predicho)	102,5 (94,9 – 112,5)	106,2 (99,4 – 116,5)	0,402
FEV ₁ /FVC (SD-score)	1,11 (0,5 – 2,6)	0,79 (0,0 – 2,5)	0,224
FEV ₁ /FVC (% valor predicho)	111,0 (106,0 – 114,5)	106,3 (102,8 – 112,8)	0,038

FVC: capacidad vital forzada, FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo.
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 17. Comparación de los resultados de los valores de la a pletismografía corporal según el grado de control metabólico en pacientes con DM1

Control metabólico	Adecuado control	Inadecuado control	"p"
TLC (SD-score)	1,30 (0,1 – 2,2)	1,26 (0,7 – 2,3)	0,147
TLC (% valor predicho)	105,9 (97,2 – 117,8)	113,3 (105,3 – 120,6)	0,094
RV (SD-score)	-0,60 (-3,5 – 1,3)	-1,2 (-3,5 – 2,1)	0,560
RV (% valor predicho)	156,5 (141,3 – 179,4)	167,8 (148,4 – 194,1)	0,222
RV/TLC (% valor predicho)	147,5 (132,1 – 159,9)	150,1 (137,6 – 159,4)	0,743
Raw (SD-score)	0,02 (0,01 – 0,06)	0,01 (0,00 – 0,02)	0,198
Raw (% valor predicho)	110,6 (92,2 – 141,3)	109,3 (94,2 – 131,2)	0,870
ITGV (% valor predicho)	106,3 (96,4 – 122,7)	100,5 (94,9 – 114,9)	0,146

TLC: capacidad pulmonar total, RV: volumen residual, Raw: resistencia (kPa*seg/L), ITGV: volumen de gas intratorácico expresado en litros (L)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 18. Comparación de los resultados de los valores de la capacidad de difusión de monóxido de carbono según el grado de control metabólico en pacientes con DM1

Control metabólico	Adecuado control	Inadecuado control	"p"
DLCO (SD-score)	0,37 (-0,2 – 0,4)	0,32 (0,2 – 0,3)	0,655
DLCO (% valor predicho)	123,9 (114,2 – 138,6)	126,0 (118,5 – 139,5)	0,327
VA (SD-score)	-0,83 (-1,0 – -0,4)	-1,1 (-1,1 – -0,9)	0,140
DLCO/VA (SD-score)	0,15 (-0,7 – 1,1)	0,18 (-0,2 – 1,0)	0,632

DLCO: capacidad pulmonar de difusión de monóxido de carbono, VA: volumen alveolar expresado en litros (L)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

Tabla 19. Comparación de los resultados de los valores de óxido nítrico exhalado según el grado de control metabólico en pacientes con DM1

Control metabólico	Adecuado control	Inadecuado control	"p"
NOe (valor absoluto)	21 (16 – 28)	20 (16,5 – 26)	0,862

NOe: valores de óxido nítrico exhalado expresado en partes por billón (ppb)
 Datos expresados en mediana y rango intercuartílico

2.4. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR SEGÚN LOS DISTINTOS MÉTODOS UTILIZADOS PARA SU AJUSTE EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1: CORRECCIÓN AJUSTADA SOBRE EL VALOR PREDICHO SEGÚN PARÁMETROS KNUDSON O CORRECCIÓN AJUSTADA POR ESTADIO PUBERAL SEGÚN PARÁMETROS DE ROSENTHAL

En este apartado del estudio, se evalúan y comparan los resultados obtenidos en las distintas pruebas de FP teniendo en cuenta los dos métodos empleados para el análisis de los mismos: comparación con el valor teórico predicho para el sexo y la talla de cada sujeto (según parámetros Knudson) y según la corrección específica teniendo en cuenta, además, el estadio puberal (según la corrección específica de Rosenthal).

En la mayoría de las variables analizadas de FP, se detecta un mayor porcentaje de resultados patológicos cuando se tiene sólo en cuenta el sexo y talla de los sujetos, siendo este porcentaje menor cuando además se tiene en cuenta el estadio puberal.

Los resultados de esta comparación quedan detallados en la Tabla 25.

Tabla 20. Comparación de los resultados de las pruebas del estudio de función pulmonar en pacientes con DM1 en función del método empleado para su comparación

	VALOR PREDICTIVO	ROSENTHAL
% patológico	DM1	DM1
ESPIROMETRIA		
FVC	14,1%	8,7%
FEV ₁	3,3%	3,3%
FEV ₁ /FVC	1,1%	0%
Global	15,1%	9,8%
PLETISMOGRAFIA		
TLC	38,2%	0%
mayor	34,8%	---
menor	3,4%	---
RV		
mayor/global	74,2%	49,4%
Raw	---	0%
Global	---	49,4%
DIFUSION PULMONAR		
DLCO	27,8%*	0%
mayor	26,6%*	---
menor	1,3%	---
VA	---	20,3%
DLCO/VA	0%	3,6%
Global	26,8%*	22,9%

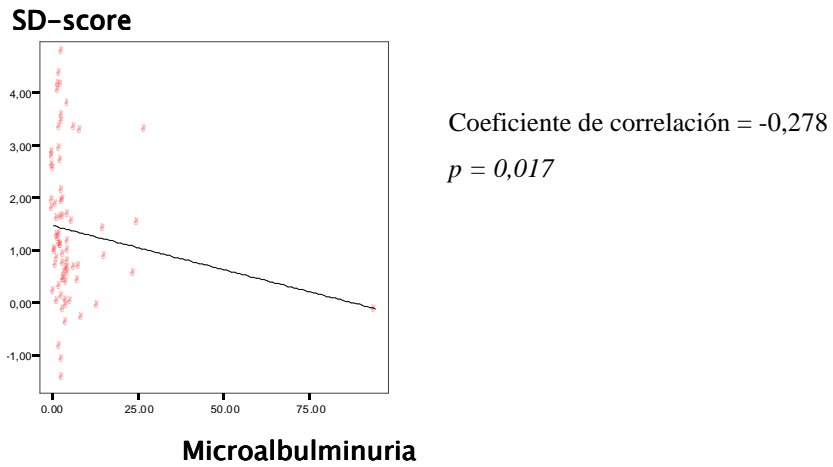
FVC: capacidad vital forzada, FEV₁: volumen espiratorio forzado en primer segundo, TLC: capacidad pulmonar total, RV: volumen residual, Raw: resistencia, DLCO: capacidad pulmonar de difusión de monóxido de carbono, VA: volumen alveolar, NS: no significativo
Resultados expresados en porcentajes

2.5. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN EN EL GRUPO DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1

En este análisis, se evaluaron las posibles relaciones existentes entre los distintos parámetros de FP y las diferentes variables relacionadas con DM1. Se realizó un estudio de correlación no paramétrica mediante el estadístico Rho de Spearman. Todos los parámetros de FP se analizaron en función del valor expresado en % con respecto al valor predicho y también con la corrección añadida para el estadio puberal. De las variables relacionadas con la DM1 se analizaron: años de evolución de la enfermedad, niveles de HbA1c, niveles de microalbuminuria y dosis de insulina. Además se analizaron diferentes parámetros analíticos: creatinina y urea (función renal), GOT, GPT y GGT (función hepática) y colesterol, HDL, LDL y triglicéridos (perfil lipídico).

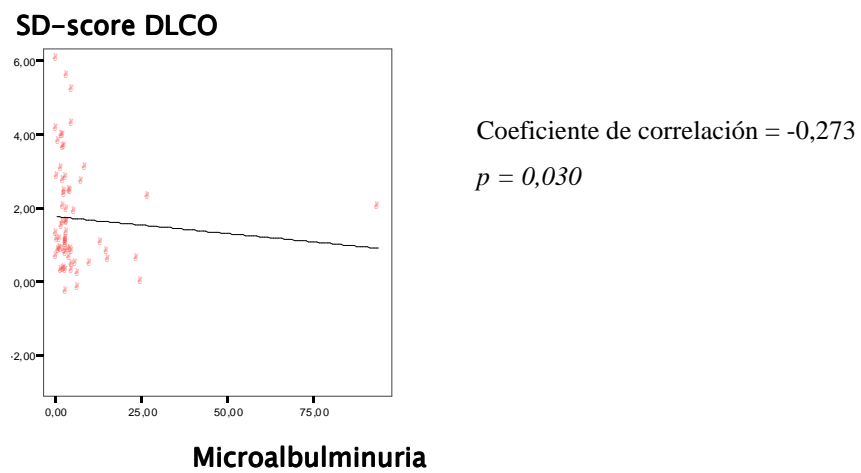
Se detectó una correlación negativa entre los niveles de microalbuminuria y los *SD-score* ajustados según estadio puberal del cociente FEV₁/FVC, de la DLCO y de las Raw (Figuras 18a, 18b y 18c). Por otro lado, se detectó una correlación positiva entre la dosis de insulina (expresada en U/Kg/d) y las Raw expresadas en % sobre el valor predicho (Figura 19). En todos estos análisis las diferencias fueron estadísticamente significativas pero los coeficientes de correlación fueron bajos, siendo todos menores de 0,4.

Figura 18.
Figura 18a.



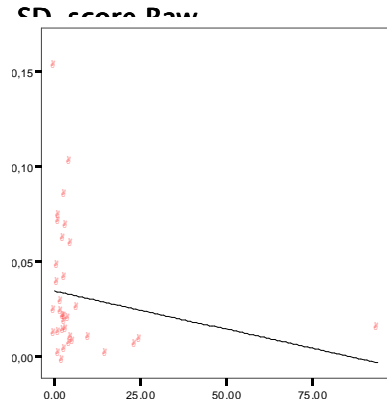
Nivel de correlación entre *SD-score* FEV₁/FVC y niveles de microalbuminuria

Figura 18b.



Nivel de correlación entre *SD-score* DLCO y niveles de microalbuminuria

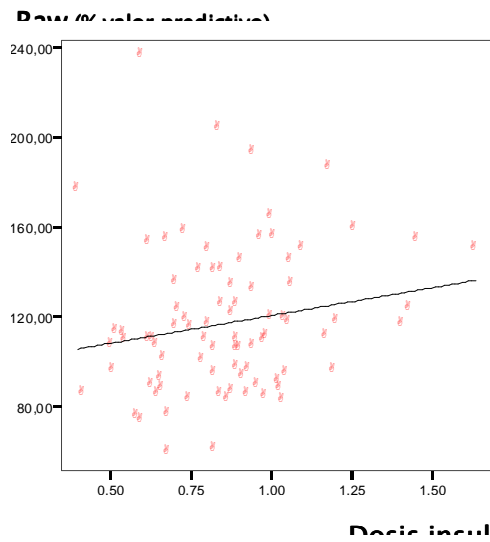
Figura 18c.



Coefficiente de correlación = -0,354
 $p = 0,040$

Nivel de correlación entre *SD-score* Raw y niveles de microalbuminuria

Figura 19.



Coefficiente de correlación = 0,226
 $p = 0,039$

Nivel de correlación entre Raw expresado en % del valor predicho y dosis insulina.

2.6. MODELOS DE REGRESIÓN MÚLTIPLE EN EL GRUPO DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 1

Se analizaron posibles asociaciones entre variables de FP y DM1 mediante modelos predichos de regresión lineal múltiple. Como variables dependientes se emplearon las variables de FP: *SD-score* de la FVC, *SD-score* del FEV₁, *SD-score* de la TLC, *SD-score* del VA y *SD-score* del cociente DLCO/VA; como variables independientes se emplearon: tiempo de evolución de la enfermedad, niveles de HbA1c, dosis de insulina y niveles de microalbuminuria.

En este análisis, no se encontró relación entre ninguno de los parámetros de FP con las variables específicas de la DM1.

DISCUSIÓN

La DM1 es una enfermedad crónica y multiorgánica con una alta prevalencia en la población. Debido al mayor conocimiento de la enfermedad y a su mejor manejo y control, las expectativas de vida de los pacientes con DM1 han aumentado, llegando muchos de estos sujetos a una edad adulta avanzada. Sin embargo, este mayor tiempo de evolución de enfermedad también asocia un mayor riesgo de desarrollo de complicaciones crónicas, siendo fundamental evitar su aparición y, si ésta ocurre, enlentecer su progresión.

Los estudios DCCT y EDIC (27,61), publicados en los años 1993 y 1999 respectivamente, fueron claves para demostrar los beneficios de un estrecho y adecuado control metabólico en esta patología mediante la terapia insulínica intensiva y la automonitorización de la glucosa capilar, propiciando un gran cambio en el manejo diario, control y seguimiento de la DM1.

Respecto a las complicaciones crónicas de la enfermedad, la microangiopatía diabética, con expresión a nivel retiniano, renal y neurológico periférico, está ampliamente estudiada y descrita. El estudio DCCT (27,60) demostró el efecto beneficioso marcado de la terapia intensiva insulínica frente a la terapia convencional, ya que determina el retraso en la aparición de dichas complicaciones, así como el enlentecimiento en la progresión de las mismas. Este mejor control metabólico de la DM1 con la terapia intensiva queda reflejado en la disminución de los niveles de HbA1c, parámetro bioquímico fundamental utilizado en el seguimiento de los pacientes. El estudio EDIC 4 años más tarde (61,62), y otros estudios posteriores más de una década después (63,64,65), continuaron demostrando el beneficio de dicha terapia para evitar el desarrollo y progresión de las complicaciones

microvasculares, a pesar del empeoramiento global posterior de los niveles de HbA1c en la cohorte de pacientes estudiada. Este hecho sugiere que los eventos que permiten el desarrollo de la microangiopatía se instauran en periodos de peor control metabólico y que ésta puede continuar progresando en periodos posteriores, incluso con mejor control metabólico; este fenómeno se conoce como “la memoria metabólica”. De ahí la importancia de la instauración de la terapia insulínica intensiva de una manera precoz tras el diagnóstico de la DM1, con el objetivo de conseguir el mejor control metabólico posible y mantenerlo a largo plazo. Esta recomendación se extiende a cualquier grupo de edad, incluida la edad pediátrica, siempre que se consiga de una manera segura y controlada para evitar el riesgo de hipoglucemia.

Los estudios sobre la presencia de enfermedad microvascular y alteración del tejido conjuntivo en la DM1 en otros órganos diferentes a los clásicamente estudiados son más escasos y, por ello, el conocimiento más limitado, como es el caso del pulmón. Teniendo en cuenta la amplia red vascular y el abundante contenido fibroso que componen el pulmón, éste podría ser un órgano diana de las complicaciones crónicas de la DM1, al igual que se ven afectados los tejidos vascular y conectivo de otros órganos. Los estudios sobre la afectación pulmonar en pacientes con DM1 son escasos y sus resultados contradictorios, habiendo campos de la FP no evaluados hasta la actualidad, como la inflamación eosinofílica. En población pediátrica, se han realizado únicamente siete estudios, con resultados igualmente contradictorios. Por ello es importante ampliar el conocimiento en este campo para determinar las posibles implicaciones clínicas y, eventualmente, terapéuticas futuras.

Los resultados del presente estudio sugieren una alteración subclínica de la FP en niños y adolescentes con DM1, con independencia del tiempo de evolución de enfermedad y del grado de control metabólico de la misma. Las diferencias encontradas al evaluar los distintos parámetros de FP cuando éste se ajusta, además de por el sexo y la talla, según el estadio puberal, determinan la importancia de incluir este aspecto en la valoración de la FP en edad pediátrica.

1. DIABETES MELLITUS TIPO 1

1.1 Discusión sobre los resultados del estudio de la espirometría forzada

En este estudio hasta un 9% de pacientes con DM1 tienen estudio espirométrico patológico, que incluye en todos los casos una disminución de la FVC. En comparación con el grupo control, se detecta un mayor cociente FEV_1/FVC en los pacientes con DM1 cuando este parámetro se ajustada por estadio puberal. Además, se detecta una tendencia, sin significación estadística, a la disminución de FEV_1 y FVC en los sujetos con DM1.

El primer trabajo que valora la FP mediante espirometría simple en pacientes pediátricos con DM1 es el de Buckingham y cols (126) en el año 1986. Este grupo estudió a 375 pacientes con DM1 durante su estancia en un campamento, sin compararlos con un grupo control. La edad de los pacientes y la duración de enfermedad medias eran de 12 (7-25) y 5 (0,08-17) años, respectivamente, por lo que no se puede considerar exclusivamente pediátrico ya que incluye a pacientes mayores de 18 años. Entre los pacientes de este estudio, 41 eran asmáticos (18 de ellos en tratamiento específico para el asma en el momento del estudio), 30 eran fumadores y 190 (el 51% de la muestra) tenían afectación cutáneo-articular en grado variable, considerada como complicación de su DM1. El estudio no define el grado de control metabólico de los enfermos. Los autores realizaron una espirometría simple en los pacientes y detectaron en el 19% de los mismos una VC inferior a 2 DE de la media en comparación con su valor predicho. No encontraron relación entre este descenso de la VC con la edad, la duración de la DM1, la dosis de insulina ni con la presencia

de complicaciones (cambios en la piel, limitación de la movilidad articular, retinopatía ni proteinuria). Es de destacar que tampoco encontraron relación de la alteración de la VC con tener antecedentes de asma o historia de tabaquismo. A pesar de las limitaciones del estudio, al incluir sujetos con patología pulmonar conocida independiente de la DM1, hábitos de toxicidad pulmonar y de no ser completamente pediátrico, al incluir a pacientes mayores de 18 años, éste trabajo que data de mediados de los 80 es el primero que busca una posible alteración de la FP en la DM1 e incluye a pacientes en edad pediátrica.

Respecto a los valores de FVC, en el presente estudio los resultados de la espirometría forzada detectan una tendencia a valores menores de la FVC en el grupo de pacientes DM1 con respecto a los controles. Primhak y cols (136) en el año 1987, fueron quienes detectaron por primera vez una alteración de la FVC en el estudio espirométrico que realizaron en pacientes pediátricos con DM1. Estudiaron un total de 88 niños sin enfermedad pulmonar y los compararon con un grupo control de 216 niños, siendo las edades medias de los grupos de $11,8\pm 2,7$ y $11,6\pm 2,5$ años, respectivamente. Ningún paciente incluido, salvo un niño que presentaba limitación de la movilidad articular, tenía complicaciones secundarias a la enfermedad. En este trabajo, los pacientes con DM1 tuvieron un valor de la FVC menor en comparación con el grupo control y menor con respecto al valor predicho para su edad y talla. Más recientemente, Cazzato y cols (140) encontraron valores de FVC inferiores en sus pacientes estudiados con DM1 en comparación con grupo control. Por último, Al-Saadi y cols (142) también detectaron una disminución de FVC en su grupo de pacientes pediátricos con DM1 en relación con los valores predichos teóricos para su

sexo y talla. Sin embargo, no todos los trabajos han encontrado este resultado, ya que otros autores no han detectado alteraciones de la FVC en la espirometría forzada realizada en pacientes pediátricos con DM1 (138,139,141).

Los resultados de los valores de FEV₁ del presente estudio muestran una tendencia a valores inferiores de este parámetro con respecto a los controles. Villa y cols (137) en el año 1988, estudiaron 55 pacientes DM1 con edades comprendidas entre los 7 y 18 años (media de 13,0±0,3 años) y duración de la enfermedad entre 2 meses y 15 años (media de 5,1±0,5 años); detectaron un menor FEV₁ en el grupo DM1 en comparación con los controles, aunque ninguno de los valores de FEV₁ era patológico. Como dato limitante, en este estudio se incluían pacientes con antecedentes personales de alergia, tanto en el grupo DM1 como en los controles, sin existir diferencias en este punto entre ambos grupos.

En el año 2004, Cazzato y cols (140) estudiaron una población de 31 pacientes con DM1 (13 de ellos en el momento del debut) y 41 controles, con edad media de 10±1,8 años, sin evidencia de patología pulmonar, del tejido conectivo, neuromuscular, limitación articular, tabaquismo ni obesidad. Estos autores, como dato novedoso, expresan los resultados de la evaluación de la FP como un valor de *SD-score* una vez corregido, además de por sexo y talla, por estadio puberal, ajuste también realizado el presente trabajo y no realizado por otros autores. En sus resultados objetivaron valores menores de FEV₁ en los pacientes con DM1 con respecto a los controles. Sin embargo, Verroti (138), Van Gent (139), Villa (141) y Al-Saadi (142) y sus cols, siendo éste el último trabajo publicado sobre FP en

pacientes con DM1 en edad pediátrica, no han detectado alteraciones de la FEV₁ en sus enfermos.

Así, en el presente estudio se objetivó una tendencia, sin significación estadística, a la disminución conjunta de FEV₁ y FVC que también ha sido descrita anteriormente en población pediátrica con DM1 por Cazzato y cols (140).

En el estudio que se presenta, el valor de la relación FVE₁/FVC en el grupo de los pacientes con DM1 es significativamente superior al del grupo control, lo que puede ir a favor de una disfunción pulmonar secundaria a alteración del parénquima pulmonar, en consonancia con lo descrito por Primhak y cols (136), trabajo que hace referencia específica a esta alteración en pacientes pediátricos con DM1.

En el estudio presente, no se ha objetivado relación entre los valores del estudio de la espirometría forzada con el tiempo de evolución de la enfermedad, pero sí se ha detectado un aumento de la relación FVE₁/FVC en los pacientes con mejor grado de control metabólico de la enfermedad. En el análisis de posibles factores relacionados con las alteraciones en la espirometría, y en concreto de factores asociados a la diabetes, los distintos estudios previos no han detectado ninguna correlación.

Con respecto al análisis de los resultados de la espirometría forzada comparando los ajustados sólo por talla y sexo, con aquellos también ajustados en función del estadio puberal según los parámetros de Rosenthal, se obtuvieron diferentes resultados en uno y otro análisis en los mismos sujetos, tanto en el grupo DM1 como en el control, con menor porcentaje de resultados patológicos cuando se

tenía en cuenta el estadio puberal globalmente, siendo estos resultados más notorios en el caso del análisis de la FVC.

Hasta ahora, en ninguno de los estudios publicados sobre FP en pacientes con DM1 se había realizado dicha comparación. En este sentido, Rosenthal y cols (158) formularon una ecuación con factores de corrección específicos según cada estadio puberal para la mayoría de los parámetros del estudio de FP. Esta ecuación la desarrollaron al detectar en su estudio, en una población de niños sanos, variaciones significativas en los resultados de la evaluación inicial de la FP mediante espirometría; estos cambios se relacionaron con un efecto significativo del desarrollo puberal en la evolución de la FP. Su estudio está basado en los hallazgos detectados previamente por Schrader y cols (162) quienes objetivaron que los cambios en el FEV₁ durante el desarrollo puberal no se podían explicar únicamente por el aumento de talla, sino que había que tener también en cuenta los cambios en las proporciones corporales de los sujetos secundarios a la pubertad. Para realizar este estudio, Schrader y cols analizaron periódicamente peso, talla y dimensiones torácicas en una cohorte de 298 niños sanos.

Hasta ahora, Cazzato y cols (140) habían sido los únicos autores en tener en cuenta el desarrollo puberal en el análisis de la FP de pacientes con DM1. Este grupo en su estudio no realizaron el doble análisis de evaluar los parámetros de FP teniendo en cuenta el sexo, la talla por un lado y el sexo, la talla y el estadio puberal por otro, como se ha realizado en nuestro trabajo.

En resumen, en el estudio que se presenta los resultados de la espirometría forzada sugieren una alteración subclínica en los sujetos con DM1, reflejada en el aumento del cociente FEV_1/FVC y tendencias a valores inferiores de FEV_1 y FVC . Estas alteraciones podrían estar en relación con una afectación de la mecánica o la elasticidad pulmonar como complicación de la DM1, sin que se puedan relacionar con la duración o el grado de control metabólico de la enfermedad.

En el análisis de la espirometría en la edad pediátrica, se debe tener en cuenta, además de la talla y el sexo del sujeto, también su estadio puberal en la evaluación de los resultados, pues este subanálisis es importante para la valoración real de la FP en la infancia y adolescencia.

1.2 Discusión sobre los resultados del estudio de la pletismografía corporal

En este estudio, un 3,4% de pacientes con DM1 tienen una TLC, expresada en porcentaje sobre el valor predicho, menor al que le correspondería para su talla y sexo; pero cuando se tiene en cuenta además el estadio puberal, en ninguno de los pacientes se obtiene un valor de *SD-score* de TLC patológico. Respecto a la resistencia de la vía aérea, en este estudio se han detectado valores menores de Raw en el grupo DM1 respecto al grupo control. Por otro lado, se ha evidenciado una tendencia a una mayor relación RV/TLC en el grupo con DM1, pero sin un descenso de la TLC.

Al analizar los resultados del estudio de pletismografía corporal, en este estudio no se detectan diferencias significativas entre los grupos. Se detecta una tendencia a valores superiores de la TLC en el grupo DM1 en comparación con el grupo control. Sin embargo, entre el grupo con DM1 y el grupo control existe una diferencia significativa en la talla, siendo ésta mayor en el grupo con diabetes, así como una tendencia a mayor edad también en este grupo; estas diferencias podrían justificar un mayor volumen pulmonar en el grupo con DM1. En consonancia con los datos anteriores, una mayor talla y mayores volúmenes pulmonares se asociarían también con unos valores superiores de las RV y del cociente RV/TLC, resultados que se han obtenido en el grupo DM1 en comparación con el grupo control.

En el año 1990, Heimer y cols (123) realizaron su estudio en un total de 31 pacientes con DM1. En este grupo se incluían adolescentes y adultos jóvenes, siendo la edad media del grupo de $31,5 \pm 6,3$. Los autores objetivaron una menor TLC

asociada a la DM1 en comparación con el grupo control, y más aún, encontraron que este descenso de la TLC se relacionaba con el tiempo de evolución de la enfermedad. Esta relación encontrada entre volúmenes pulmonares y duración de la enfermedad coincide con la tendencia de los pacientes del presente estudio a tener menor TLC, RV e ITGV a mayor tiempo de evolución de la enfermedad.

Hasta la actualidad, sólo existen en la literatura dos publicaciones que hayan analizado los datos del estudio de pletismografía corporal en sujetos con DM1 en edad pediátrica. En el primero de ellos, Van Gent y cols (139), en el año 2002, evaluaron un grupo de 27 pacientes con DM1 con una edad media de $12,8 \pm 5$ años, duración media de enfermedad de 5,5 años (1-17) y HbA1c media de 8,5% (6-16,9), sin historia de patología respiratoria ni tabaquismo. En este trabajo se objetivó unos valores de ITGV normales en los pacientes con DM1. En el segundo estudio, Cazzato y cols (140) detectaron un aumento de la relación RV/TLC entre los pacientes con DM1 con respecto a los controles, asociada a normalidad de los valores de TLC.

Las tendencias de los resultados obtenidos en el grupo DM1 de los datos de la pletismografía corporal en este estudio son congruentes con lo descrito por Cazzato y cols (140) que muestra una disminución de la FVC y una mayor relación RV/TLC pero sin un descenso de la TLC. Estos resultados pueden ser interpretados, al igual que plantean los autores mencionados, como secundarios a una disminución de la elasticidad pulmonar.

No se ha detectado relación de los valores de los parámetros del estudio de pletismografía corporal con el grado de control metabólico de la enfermedad ni con

el tiempo de evolución de ésta, en concordancia con los estudios previos que tampoco han obtenido diferencias en este análisis.

Sin ser tan marcado como en el caso de la espirometría, Rosenthal y cols (159) también detectaron en los estudios de pletismografía corporal cambios de los resultados en función del estadio puberal, siendo éstos más claros en el caso de los varones, debido probablemente al mayor tamaño de la caja torácica. En función de sus resultados, también formularon ecuaciones con factores correctores específicos para distintos parámetros del estudio de pletismografía en función del estadio puberal, además de la talla y el sexo.

En el presente trabajo en la pletismografía corporal, como ocurría en la espirometría forzada, se obtienen resultados diferentes al analizar la TLC en función del estadio puberal, siendo menor el porcentaje de resultados patológicos cuando se tenía en cuenta el estadio puberal, como se ha comentado al inicio del apartado.

Con respecto a la resistencia de la vía aérea, en este estudio se ha detectado un valor menor del *SD-score* de Raw en el grupo DM1 respecto al grupo control. Sin embargo, ninguno de los resultados está en rango patológico por lo que la significación clínica de este dato es incierta.

Algunos de los estudios previos sobre Raw en población pediátrica con DM1 han detectado aumento de la misma, sin indicar una causa específica definida (138,139). Se podría pensar que las alteraciones de proteínas como el colágeno y la elastina secundarias a la glicosilación no enzimática podrían justificar un comportamiento más rígido del pulmón. Así, en el año 1993, fueron Verroti y cols (138) quienes analizaron por primera vez las resistencias pulmonares en un grupo de

68 niños con DM1, con edades comprendidas entre 6 y 22 años (media de $15,25 \pm 6,7$ años), con una duración media de la enfermedad de $4,9 \pm 6,1$ años, pero con un rango muy amplio de tiempo de evolución de la misma (0,08-20,5 años) y sin historia de patología pulmonar, alérgica ni limitación articular. Establecieron subgrupos en función de la duración de la enfermedad y del control metabólico de la misma. Estos autores también encontraron un aumento de la Raw asociado a la DM1, mayor en los pacientes con tiempo de evolución de la enfermedad más prolongado y con tendencia a ser mayor en aquéllos con microvasculopatía renal, es decir, en los que tenían microalbuminuria. Posteriormente, Van Gent y cols (139) detectaron también un aumento de la resistencia de la vía aérea en niños con DM1.

Las Raw de los pacientes con DM1 en el presente estudio tuvieron tendencia a ser inferiores cuando se expresaban en % sobre el valor predicho y fueron menores cuando se estudiaron ajustadas según estadio puberal, mediante *SD-score*, en comparación con el grupo control. Esta disminución no tuvo relación con la duración ni con el control metabólico de la enfermedad. El hecho de que el grupo de pacientes con DM1 tenga mayor talla y mayores volúmenes pulmonares, al igual que ocurría en los análisis anteriores, podría explicar estos resultados.

Como conclusión, el análisis del estudio de la pletismografía corporal del presente estudio no muestra resultados patológicos en el grupo de pacientes con DM1, aunque las diferencias de talla que existen entre el grupo DM1 y el control, y con ellas la diferencia de volumen torácico, podrían limitar la interpretación de este análisis.

1.3. Discusión sobre los resultados del estudio de la capacidad de difusión de monóxido de carbono

En el estudio que se presenta, un 1,3% de pacientes con DM1 tienen una DLCO, expresada en porcentaje sobre el valor predicho para su talla y sexo, menor a la esperada, pero al tener en cuenta además el estadio puberal, en ninguno de los pacientes se obtiene un valor patológico. Por otro lado, cuando se comparan los resultados de DLCO entre los pacientes con DM1 y el grupo control ajustados según el estadio puberal, en el grupo de pacientes DM1 se detecta una tendencia a valores inferiores de DLCO y VA expresados en forma de *SD-score*.

En el momento actual, solo tres grupos han estudiado la capacidad de difusión de CO en pacientes con DM1 en la edad pediátrica. En el primer trabajo, Van Gent y cols (139) en el año 2002, no detectaron alteraciones en el análisis de la DLCO en su población pediátrica con DM1 con respecto a los controles. Posteriormente, Cazzato (140) y Villa (141) publicaron sus resultados en el año 2004. Villa y cols (141) comparan los resultados del análisis de FP de un grupo de 39 niños con DM1, con edades comprendidas entre los 5 y 14 años, sin complicaciones asociadas, con los de un grupo control de 30 niños sanos; que expresaron sus resultados de acuerdo al valor predicho para edad, sexo y talla, y detectaron unos valores del cociente DLCO/VA muy similares en el grupo de pacientes con DM1 en comparación con los controles. Cazzato y cols (140) hicieron el ajuste de los resultados de difusión, además, teniendo en cuenta el estadio puberal de los sujetos, y obteniendo un valor de DLCO inferior en los pacientes con DM1.

En el grupo DM1 del estudio que se presenta, no se detectan diferencias significativas en los resultados cuando se comparan los mismos en función del tiempo de evolución de la enfermedad ni del grado de control metabólico de la misma. En este análisis de la posible relación entre el estudio de capacidad de difusión pulmonar de CO con factores asociados a la DM1, tiempo de evolución de enfermedad y grado de control metabólico, Cazzato y cols (140) tampoco detectan ninguna relación, pero Villa y cols (141) encuentran una correlación negativa de la DLCO con los niveles de HbA1c.

En el presente estudio, el hecho de que los pacientes del grupo DM1 tuvieran una talla mayor en comparación con el grupo control, da un valor relativo al análisis aislado del valor de DLCO expresado en % sobre el valor predicho. Consideramos que tiene más valor el análisis de difusión mediante la relación DLCO/VA pues, al tener en cuenta el VA, se elimina el posible sesgo de confusión de una mayor DLCO asociada a sujetos más altos (como ocurre en el grupo DM1 de este estudio). En este sentido, los valores de DLCO expresados en % sobre el valor predicho son significativamente superiores en el grupo DM1, sujetos con mayor talla, en comparación con el grupo control. Así, la eliminación de este factor de confusión, mediante el análisis de los valores de la relación DLCO/VA, muestra una leve tendencia a valores menores en el grupo DM1 en comparación con el grupo control.

Los resultados sobre capacidad de difusión de CO del presente estudio podrían apoyar la hipótesis del pulmón como órgano diana de las complicaciones microvasculares de la DM1. En condiciones fisiológicas, el oxígeno y otros gases pasan del alvéolo al torrente sanguíneo capilar atravesando la membrana alveolo-

capilar por un proceso pasivo de difusión dependiente del gradiente de presión. Uno de los factores determinantes de la difusión a través de la interfase alveolo-capilar es la distancia entre la pared alveolar y la pared capilar; en condiciones normales, ésta tiene un espesor mínimo para que no haya ninguna limitación a este proceso. La difusión gaseosa puede alterarse por un aumento de la interfase alveolo-capilar secundario a la afectación del tejido conectivo y/o la matriz extracelular locales, consecuencia del engrosamiento de las membranas basales y/o de la fibrosis local; estos hallazgos ya han sido descritos asociados a la diabetes por varios autores (79,81,82,83,85,86). Junto a ello, la glicosilación no enzimática de las proteínas distorsiona la membrana basal vascular produciendo engrosamiento de la misma, también a nivel de la microvasculatura pulmonar, paredes de capilares alveolares y arteriolas pulmonares (84). Estos cambios alteran la permeabilidad vascular y con ello, la capacidad de difusión pulmonar de CO.

En conclusión, el presente estudio parece sugerir una afectación subclínica de la capacidad de difusión pulmonar en los pacientes con DM1 que se ve influida por el desarrollo puberal.

1.4. Discusión sobre los resultados del estudio del óxido nítrico exhalado

En el análisis de los resultados de NOe no se han encontrado diferencias significativas en ninguna de las comparaciones realizadas entre el grupo con DM1 y los controles, ni en el grupo DM1 en función del tiempo de evolución de la enfermedad ni del grado de control metabólico. Sí se detectó una tendencia a valores superiores de NOe en el grupo de DM1 y, dentro de éstos, los valores máximos de NOe se encontraron en el subgrupo de pacientes con niveles superiores de HbA1c, mayores de 8% (datos no mostrados).

Es bien conocido que la mayoría de los pacientes con asma eosinofílica tienen una disminución del FEV₁ (secundaria a la obstrucción de la vía aérea) y un aumento del NOe (secundario a la inflamación eosinofílica). El presente estudio analizó la posible relación de ambos parámetros de FP en los pacientes con DM1, sin encontrar ninguna correlación entre los mismos; tampoco se encontró ninguna relación teniendo en cuenta el tiempo de evolución de la enfermedad ni el grado de control metabólico.

La tendencia detectada a valores superiores de NOe en el grupo de DM1 y el hecho de que, dentro de éstos, los valores máximos de NOe correspondan a los pacientes con peores valores de HbA1c, invita a estudiar en profundidad la inflamación pulmonar en los pacientes con DM1, ya que no tiene porqué existir una mayor inflamación eosinofílica en este grupo de enfermos.

1.5. Discusión sobre los resultados del estudio en función del grado de control metabólico de diabetes mellitus tipo 1

En cada uno de los apartados anteriores se ha tenido en cuenta la posible influencia del grado de control metabólico de los pacientes en los resultados de los distintos parámetros de FP analizados en el estudio, sin encontrar diferencias marcadas al respecto.

Teniendo en cuenta que la HbA1c es un marcador directo del grado de control metabólico de la DM1, es lógico pensar que a mayores niveles de HbA1c mayor es la posibilidad de encontrar complicaciones crónicas en los pacientes y viceversa. De hecho, los estudios DCCT (27,62) y EDIC (61,63) demostraron la asociación entre el desarrollo y progresión de las complicaciones diabéticas y los niveles de HbA1c elevados presentes en los pacientes con mal control metabólico. Los pacientes del presente estudio tienen, en su mayoría, un muy buen control metabólico, con unos valores globales medios de HbA1c de 7,08% y un rango de 6,7% a 7,5%, teniendo el grupo con inadecuado control metabólico una media de HbA1c de 7,8%. Este grado de control metabólico es el mejor entre los estudios de FP en pacientes con DM1 hasta ahora descritos. Hay que tener también en cuenta que, en niños entre 6 y 12 años con DM1, la recomendación de la American Diabetes Association es mantener unos niveles de HbA1c menores a 8%. Así, el control metabólico del grupo estudiado, en teoría, hace poco probable la presencia de complicaciones crónicas de la diabetes; así, entre los pacientes del estudio no se detectó ningún caso de retinopatía, nefropatía ni neuropatía diabética ni otras complicaciones conocidas relacionadas con la DM1. Extrapolando estos datos, se podría pensar que si el

adecuado control metabólico ha favorecido que no se desarrollen complicaciones secundarias a la hiperglucemia, igualmente habría podido evitar la aparición de alteraciones teóricas de la FP.

Así, en los primeros estudios de FP realizados en pacientes pediátricos con DM1, en el grupo de Villa y cols (137), que encontraron un menor FEV₁, el grado de control metabólico de los sujetos era malo, con unos valores medios de HbA1c de 12±3,2%. En el caso de Verroti y cols (138), que detectaron un aumento de las resistencias, el control metabólico de los pacientes también era malo, con una HbA1c media de 14,4±2% (138). En los estudios más recientes (139,140,141), aunque el control metabólico de los pacientes es mejor, las medias de HbA1c están por encima del objetivo de 7,5% de la ISPAD, con unos niveles medios de HbA1c de 8,5% (rango 6-16,9) (139), 7,6±0,9% (140) y 7,7±0,7% (141), respectivamente; en ellos se detectan alteraciones diversas en el estudio de la FP. En relación con el grado de control metabólico, Villa y cols (141) encuentran una correlación negativa entre la DLCO y los niveles de HbA1c, con una menor DLCO especialmente en aquellos con mayor HbA1c. En el último estudio publicado, Al-Saadi y cols (142) analizan los resultados espirométricos en un grupo de 52 niños con DM1, con edades comprendidas entre 8 y 14 años (media de 12,05 ± 1,4 años) y una duración media de enfermedad de 5,2 ± 0,4 años. A pesar de ser el más reciente, este grupo de pacientes tiene un muy mal control metabólico, con una HbA1c media de 11,2 ± 0,3%, y los autores se explican los hallazgos patológicos encontrados en su cohorte en relación al mal control glucémico de su DM1, enfatizando la importancia de conseguir un adecuado control metabólico, también en el caso de los niños, con el objetivo de

prevenir las complicaciones secundarias. Así, un estudio muy reciente realizado en adultos con DM1 sugiere que un buen control metabólico podría potencialmente evitar las alteraciones en la FP (163).

El hecho de que el grado de control metabólico de los pacientes del presente estudio sea mejor que el del resto de los grupos que han publicado estudios de FP en DM1 en edad pediátrica, podría haber determinado la menor presencia de alteraciones significativas en su estudio de la FP. Se podría especular que el buen control metabólico de estos pacientes influiría positivamente para impedir el desarrollo de disfunción pulmonar, al igual que es bien conocida la protección que ejerce el buen control metabólico de la diabetes en la aparición y progresión de la microangiopatía.

1.6. Discusión sobre los resultados de los estudios de correlación y de regresión múltiple

En el análisis de correlación entre los distintos parámetros de FP y los estudios analíticos de función renal, función hepática, perfil lipídico y necesidades de insulina de este estudio, se detectó una correlación negativa entre los niveles de microalbuminuria y los *SD-score* del cociente FEV₁/FVC, de la DLCO y de las Raw. Por otro lado, se detectó una correlación positiva entre la dosis de insulina, determinada en U/Kg/d, y las Raw expresadas en % sobre el valor predicho. En este punto hay que especificar que, aunque el análisis de correlación sea estadísticamente significativo, el valor de los coeficientes de correlación es bajo, siendo en todos los casos inferior a 0,4, de forma que no consideramos que estas correlaciones tengan significación clínica. No existen trabajos en la literatura que hayan realizado un análisis similar.

En relación con los valores de microalbuminuria, Verroti y cols (138) no detectaron diferencias en su estudio de FP entre los pacientes con DM1 ya tuvieran o no niveles patológicos de microalbuminuria.

2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Globalmente, como limitaciones del presente estudio hay que destacar:

- El pequeño tamaño muestral.
- Las diferencias significativas en la talla entre los grupos. En el grupo control muchos de los pacientes tienen, sin llegar a ser patológica (pues todos ellos tenían una talla no menor a 2 DE), una talla baja familiar. Aunque todos los parámetros de FP están obtenidos y corregidos teniendo en cuenta la talla de cada sujeto, no hay duda de que los pacientes con menor talla, como es el caso de los controles, tienen una caja torácica menor y por ello menores volúmenes pulmonares. En el estudio, los controles son más bajos que los pacientes, lo que podría constituir un factor de confusión.
- La tendencia a edades diferentes entre los grupos. En el grupo control, la edad de los sujetos tiende a ser menor que en el grupo DM1, lo que también podría afectar a los resultados del estudio de FP en el mismo sentido que la diferencia de talla.
- A la hora de comparar los resultados con los estudios previos, no todos los estudios utilizan los mismos valores de referencia para analizar los resultados; por lo que a veces las comparaciones realizadas no son completamente valorables.
- Con respecto al tiempo de evolución de la enfermedad, los pacientes del grupo con DM1 tienen, como media, un tiempo corto-medio de evolución de

la misma, lo que hace menos probable la presencia de complicaciones crónicas de la enfermedad.

- Finalmente, en relación con el grado de control metabólico, el grupo estudiado tiene, en general, un muy buen control metabólico en comparación con el grado de control metabólico de los pacientes estudios previos, como ya se ha analizado previamente. Este punto es determinante y podría condicionar los resultados obtenidos, pues el buen control metabólico se ha demostrado que evita la aparición de las complicaciones microvasculares clásicas y así, en el mismo sentido, podría también impedir la aparición y desarrollo de otras posibles alteraciones microvasculares hasta ahora menos conocidas como pudiera ser la microangiopatía pulmonar. Por eso, para completar el estudio y valorar la repercusión de estos últimos parámetros mencionados, sería necesario ampliar el análisis con un mayor número de pacientes entre los que hubiera, además de mayor tiempo de evolución de la enfermedad, una población más numerosa con mayor variabilidad en el control metabólico para establecer la existencia o no de diferencias en su FP. Sin embargo, como el objetivo del cuidado, control y seguimiento de los pacientes con DM1 en edad pediátrica es conseguir un buen control metabólico, resulta difícil ampliar esta cohorte en nuestro grupo de pacientes.

CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente estudio son las siguientes:

1.- Los resultados sugieren una afectación subclínica sutil de la FP en pacientes con DM1 con un corto-mediano tiempo de evolución de la enfermedad, a pesar de tener un adecuado control metabólico de la misma, cuando se comparan con un grupo de sujetos sanos. Esta disfunción pulmonar podría deberse a alteraciones en la mecánica y elasticidad pulmonar asociadas a un cierto grado de afectación de la microvasculatura pulmonar.

2.- El estadio puberal de los sujetos influye en los resultados del estudio de FP, ya que los resultados de los mismos varían, en parte, en función del método utilizado para el análisis de los distintos parámetros: según se ajusten solo para sexo y talla o si, además, se tiene en cuenta el estadio puberal. Para realizar un estudio completo de FP, tanto en sujetos sanos como en sujetos con DM1, se deberían tener en cuenta, además de la talla y el sexo, su estadio puberal.

3.- No se ha evidenciado en el grupo de pacientes con DM1 estudiado que el tiempo de evolución de la enfermedad influya de un modo significativo sobre la FP. Se debe puntualizar que, globalmente, el tiempo de seguimiento de los pacientes de este estudio es corto, lo que puede protegerles de la presencia y desarrollo de complicaciones en el momento del estudio.

4.- El grado de control metabólico de la DM1 no parece influir de un modo significativo sobre la FP, siempre y cuando los niveles de HbA1c estén dentro de los límites recomendados. Hay que puntualizar que, globalmente, el control metabólico

de los pacientes del estudio es muy bueno, lo que puede protegerles de la presencia y desarrollo de complicaciones en el momento del estudio.

5.- No se ha detectado ninguna relación clínicamente relevante entre parámetros de FP y datos analíticos de función renal, función hepática ni perfil lipídico.

En conclusión, este estudio apoya la hipótesis de que el pulmón es un potencial órgano diana funcionalmente implicado en las complicaciones crónicas de los pacientes con DM1, ya en la edad pediátrica. Son necesarios estudios de seguimiento en grupos amplios de pacientes para ayudar a definir la influencia del control metabólico y el tiempo de evolución de la diabetes en la FP en la edad pediátrica.

ANEXOS

ANEXO 1. Hoja de recogida de datos epidemiológicos y clínicos

Unidad de Diabetes Pediátrica. Servicio de Pediatría

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

*CODIGO:

*FECHA:

Edad:

Sexo:

Edad diagnóstico DM1:

Patología asociada:

	Sí	No
- Enfermedad pulmonar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Enfermedad del tejido conectivo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Enfermedades renales	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Enfermedad neuromuscular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Enfermedad cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Fumador	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

EXPLORACIÓN FÍSICA:

Peso:

Talla diámana:

(p , DE)

Talla: (p , DE)

IMC:

(DE)

E. Puberal: A P S R T

(Tanner:)

TA:

	Sí	No
- Dermopatía	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Limitación movilidad articular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Lipodistrofia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Hallazgos a destacar en la exploración:

ANEXO 2. Hoja de recogida de datos analíticos y complicaciones

Unidad de Diabetes Pediátrica. Servicio de Pediatría
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

*CODIGO:

*FECHA:

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS:

Analítica:

- HbA1c:
- Perfil hepático. GOT: GPT: GGT:
- Perfil lipídico. Colesterol total: HDL: LDL: TG:
- Función renal. Creatinina: Urea:

COMPLICACIONES DIABÉTICAS:

- Microalbuminuria SI / NO
- Fondo de ojo SI / NO
- Neuropatía SI / NO

ANEXO 3. Protocolo de realización de la espirometría forzada

PROCEDIMIENTO. Debe realizarse con el individuo sentado de forma que las piernas y tronco formen un ángulo de 90°. Se le debe instruir previamente sobre la maniobra a realizar y posteriormente conectar al sujeto al aparato por medio de la boquilla. Durante unos segundos debe realizar una ventilación a nivel de volumen corriente (es decir, una respiración normal), después realizar una maniobra de inspiración máxima y mantener una apnea de unos segundos, para, a continuación, realizar una espiración máxima forzada (expulsión fuerte, rápida y sostenida del aire). Se observará el registro para comprobar: la morfología de la curva, la inexistencia de irregularidades en la misma (indicadoras de tos, inspiraciones intercurrentes u otros artefactos) y que la maniobra espiratoria sea completa (es decir, hasta llegar a nivel de volumen residual). Deben obtenerse un mínimo de tres curvas cuya variabilidad sea inferior al 5%; si ésta fuera superior debería repetirse hasta alcanzar una reproducibilidad inferior al 5%. Una vez lograda, se escoge la curva en la que la suma de la FVC y el FEV₁ sea mayor.

VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS. Una vez obtenidas las gráficas y calculados los resultados se comparan con los valores teóricos según edad, sexo y talla, expresando el resultado final en forma de porcentaje sobre el valor predicho siguiendo las recomendaciones publicadas por la *European Respiratory Society* (ERS) y por la *American Thoracic Society* (ATS) (164,165,166).

ANEXO 4. Protocolo de realización de la pletismografía corporal

PROCEDIMIENTO. El sujeto se introduce en la cabina cerrada herméticamente y respira a volumen corriente a través de la boquilla, habiéndose colocado previamente unas pinzas nasales. Debe sujetarse con las manos firmemente las mejillas y el suelo de la boca con el fin de evitar vibraciones y pérdidas de aire. Una vez que se estabiliza el volumen corriente, se le indica al paciente que respire más rápido hasta una frecuencia de 120-180 respiraciones por minuto (rpm). A las 3-4 respiraciones rápidas, de forma automática, se cierra el obturador, lo cual permite medir la capacidad residual (TGV) funcional (FRC) al final de la espiración. Posteriormente, el paciente sigue respirando a alta frecuencia sin que exista flujo de aire, lo que hace que la presión en los alvéolos se iguale a la de la boca, pudiendo relacionarse ambas con la presión atmosférica. Al abrir el obturador, el individuo debe realizar una maniobra de inspiración máxima, lo que permite al aparato obtener la TLC, teniendo en cuenta la medida previa de TGV. El método pletismográfico permite medir la Raw en $\text{cm H}_2\text{O/l/seg}$. El resultado final de las variables analizadas se realiza sobre la media de tres determinaciones de respiraciones rápidas aceptables y que difieran en menos de 5% de la media.

VALORACIÓN DE LOS RESULTADOS. Una vez obtenidas las gráficas y calculados los resultados se comparan con los valores teóricos según edad, sexo y talla, expresando el resultado final en forma de porcentaje sobre el valor predicho siguiendo las recomendaciones publicadas por la *European Respiratory Society* (ERS) y por la *American Thoracic Society* (ATS) (167,168,169).

ANEXO 5. Protocolo de realización de la capacidad de difusión de monóxido de carbono

PROCEDIMIENTO. Se emplea la técnica de la respiración única. Se precisa de reposo previo y cifras conocidas de función pulmonar. Se realiza una inspiración máxima desde el RV hasta un mínimo del 90% de la TLC, realizada en 2 segundos, inhalando el aire de un reservorio con una concentración conocida de CO (0,3%), Helio (10%), O₂ (21%) y N₂ en equilibrio. Se mantiene la apnea entre 9 y 11 segundos y se exhala rápido hasta RV. El volumen de gas del final (500-1000 ml) es analizado para CO y He.

La capacidad de difusión de CO (DLCO) es proporcional al volumen alveolar y al coeficiente de transferencia alveolo-capilar que se valora como la caída exponencial de la concentración del CO durante el tiempo de apnea o de contacto alveolar del CO.

Estas recomendaciones son las publicadas por la *European Respiratory Society* (ERS) y por la *American Thoracic Society* (ATS) (170).

ANEXO 6. Protocolo de realización de la medición de óxido nítrico exhalado

PROCEDIMIENTO. Se emplea la técnica de registro *on-line* (a tiempo real) con exhalación lenta contra resistencia a flujo constante. Esta técnica se realiza en primer lugar para evitar su posible alteración cuando se realizan antes otras pruebas de FP. Se lleva a cabo en un ambiente tranquilo con antecedente de reposo previo y sin ingestión de líquidos o sólidos en la hora previa. La prueba se realiza una o dos veces y se emplea como resultado el valor medio.

En sujeto debe estar cómodamente sentado. Primero exhala en una ocasión sin el aparato en la boca y, a continuación, sujeta el aparato con las dos manos y frunce bien los labios sobre el extremo proximal de las tubuladuras o boquilla para evitar fugas que pudieran determinar una alteración de la medición de NOe. Debe realizar una maniobra de inspiración máxima por la boca hasta capacidad pulmonar total a través de la boquilla del aparato, a continuación, exhalar inmediatamente a flujo y presión constante, sin la pinza nasal. La duración de la exhalación en el caso de los niños puede ser de 6 segundos; en el caso de adolescentes y adultos se recomienda que sea de 10 segundos. El aparato emplea estímulos visuales y auditivos que se activan para lograr que se mantenga un flujo y una presión preestablecidos. En los segundos siguientes, el aparato realiza la medición mediante quimioluminiscencia y muestra el resultado en la pantalla. La interpretación de los resultados se hizo siguiendo las recomendaciones de la ATS (171).

ANEXO 7. Hoja de recogida de datos del estudio de función pulmonar

Unidad de Diabetes Pediátrica. Servicio de Pediatría
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

*CODIGO:

*FECHA:

ESPIROMETRÍA FORZADA:

- FVC:
- FEV₁:
- FEV₁/FVC:

PLETISMOGRAFÍA CORPORAL:

- TLC:
- RV:
- RV/TLC:
- Raw:
- sGaw:
- ITGV:

DIFUSIÓN PULMONAR:

- DLCO:
- VA:
- DLCO/VA:

OXIDO NÍTRICO EXHALADO:

- NOe

ANEXO 8. Modelos de consentimiento informado para el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO UNIDAD DE DIABETES PEDIÁTRICA
HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL:
ESTUDIO FUNCIÓN PULMONAR

HOJA DE INFORMACIÓN PARA PADRES O TUTORES Y CONSENTIMIENTO
INFORMADO PARA EL PACIENTE CON DIABETES MELLITUS 1

La diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad crónica que se asocia a complicaciones tardías derivadas de la afectación de múltiples órganos, entre ellos se postula la posible afectación del pulmón. Se le invita a participar de forma voluntaria en un estudio de la función pulmonar para la identificación de factores de riesgo asociados a la diabetes.

Yo, D/Dña. como paciente (mayor de 18 años) o padre/madre/tutor o representante legal de.....
(parentesco), he sido informado y doy mi consentimiento para el estudio de la función pulmonar, así como para el uso anónimo de los datos clínicos y de su respuesta al tratamiento de cara a la comunicación a la comunidad científica.

El tratamiento de los datos se hará con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal y si, además, se transmite a terceros se hará según lo establecido en la mencionada Normativa y el R.D. 994/99.

En consecuencia autorizo al Dr/Dra. la utilización de dicha información. Tengo derecho al acceso de mis datos, rectificación y cancelación en cualquier momento. Conozco mi derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento sin necesidad de explicar las causas y sin que ello menoscabe el control y seguimiento de mi hijo/a.

Debe saber que este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital donde se va a realizar sin necesidad de contratar una póliza de seguro específica.

Y para que conste firmo el presente original en Madrid, a dede 200 ...

Fdo. Representante Legal (o paciente)

Fdo. Dr.
(Investigador principal/colaborador)

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

CONSENTIMIENTO INFORMADO UNIDAD DE DIABETES PEDIÁTRICA
HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL:
ESTUDIO FUNCIÓN PULMONAR

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE
CON DIABETES MELLITUS 1 MENOR DE EDAD, MAYOR DE 12 AÑOS

Nota a los padres o tutores legales:

Los padres o tutores legales deben firmar la hoja de consentimiento informado para padres o tutores legales. Este formulario de consentimiento informado para el menor maduro mayor de doce años debería ser leído en paralelo con el formulario de información sobre el estudio clínico para padres o tutores legales para obtener una información completa del estudio. Una firma en este formulario sólo no es suficiente para permitir a un niño o a un adolescente menor de edad entrar en el presente estudio.

Te pedimos que participes en este estudio. Antes de que decidas participar, necesitas saber lo siguiente:

1. Debemos explicarte el estudio para que sepas en qué consiste y debes saber que puedes hacer las preguntas sobre el mismo que quieras para que te aclaremos todas las dudas que te puedan surgir después de la explicación y de la lectura de esta hoja informativa.
2. Está bien decir “no” si tú no quieres participar en el estudio. La participación es voluntaria. Tendrás el mismo tipo de atención médica aunque no participes.
3. Puedes cambiar de opinión y dejar de participar en el estudio en cualquier momento sin que por eso cambie tu relación con el médico ni tus cuidados. Puedes consultar con cualquier persona que consideres oportuno.
4. El estudio nos servirá para aprender y poder ayudarte a ti y a otros pacientes como tú en el futuro.

Por qué estamos haciendo este estudio

Nos dirigimos a ti para informarte del estudio en el que te invitamos a participar. Te invitamos a participar porque tienes diabetes mellitus tipo 1, enfermedad que hace que necesites un cuidado especial en tú día a día, así como la administración de insulina para la ingesta de ciertos alimentos.

Quién participará en este estudio y dónde se va a realizar

En este estudio van a participar niños entre los 8 y 18 años de edad que tienen diabetes mellitus tipo 1 y se tratan en el Hospital Ramón y Cajal y otros niños sin dicha enfermedad.

No hay ningún problema si no quieres participar en el estudio, es tu decisión y la tienes que tomar con libertad y sin presiones.

Qué tienes que hacer si decides participar en el estudio

Si entras a participar en el estudio tendrás que realizar 4 pruebas de función pulmonar coincidiendo con uno de los días que vengas a tu revisión habitual en el hospital. Si decides participar en el estudio, tendrás primero que firmar este papel y tus padres firmarán otra hoja permitiendo que participes en el mismo.

Para llevar a cabo el estudio, tras la revisión por tu médico habitual, realizarás unas pruebas de función pulmonar en la planta 3º del hospital, hasta donde te acompañaremos e irás siempre con un familiar. Allí, en el laboratorio de Función Pulmonar, te ayudarán a completar el estudio con la realización de las pruebas que te explicamos en la hoja adjunta que te hemos dado (pruebas en las que tienes que soplar siguiendo las indicaciones del médico).

Además, como parte de tu seguimiento habitual de la diabetes, te realizaremos un análisis de sangre.

¿Me va a doler algo por participar en el estudio?

Te puede doler un poco cuando te saquen la muestra de sangre del brazo y puede que te quede un punto rojo y a veces un pequeño hematoma en la zona donde te pinchó la enfermera, pero ya sabes que eso desaparece en unos

días. Si cuando te estén sacando la sangre te sientes mareado, no dudes en decírselo a la enfermera o el médico. El análisis que te vamos a hacer es parecido al que te han hecho otras veces.

Para las pruebas de función pulmonar, sólo tienes que soplar por la boca según te vayan indicando. No te preocupes porque en todo momento te van a decir como lo tienes que hacer y te van a animar para que te salga bien. Si no sale bien, no te preocupes porque se puede repetir la prueba sin ningún problema. Las pruebas de función pulmonar no duelen.

¿Qué ocurre si estoy participando en el estudio y luego cambio de opinión?

No tienes que preocuparte, no tienes que estar en el estudio si no quieres. Nadie va a enfadarse contigo y tu médico te seguirá tratando igual que antes.

Si empiezas el estudio, puedes pararlo en cualquier momento y comunicárselo a tu médico. Es importante que si quieres parar lo hables con tus padres con total confianza.

También puede ocurrir que tu padre, madre o tutor quiera interrumpir el estudio y en ese caso, al ser menor de edad, ellos tienen derecho a decidir esa parte por ti. También tu médico puede decidir que ya no debes participar más por alguna causa, si es así te explicará por qué.

¿Me va a costar dinero participar en el estudio?

No os va a costar nada a ti ni a tus padres, salvo la molestia y el desplazamiento que supone venir a la consulta a tus controles habituales.

¿Verá alguien la información médica sobre mi persona de este estudio?

Las personas que están trabajando en este estudio podrán ver tu información médica; sin embargo, no conservarán una vez finalizado el mismo ninguna información en la que aparezca tu nombre. No se dará tu nombre a nadie que no esté colaborando en el estudio y toda la información que tiene que ver contigo se guardará de forma confidencial, segura y sólo se utilizará para fines relacionados con el estudio. Todo esto se hace de acuerdo a una ley orgánica (que hace el Gobierno) que se llama Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, sobre la protección de datos de carácter personal, la cual se hace efectiva de acuerdo a la Directiva Europea de 95/46/EC sobre protección de datos. Tienes derecho a acceder a tus datos personales y, si lo consideras necesario, puedes modificarlos o rectificarlos. Si así lo deseas, debes decírselo a tus padres para que se lo digan al médico que te atiende en el estudio.

¿Cómo me informaré de lo que se descubra en este estudio?

En el momento que tu médico tenga los resultados de tus pruebas, te informará cuanto antes.

Debes saber que este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital donde se va a realizar sin necesidad de contratar una póliza de seguro específica.

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

ANEXO 9. Modelos de consentimiento informado para el grupo de controles

**CONSENTIMIENTO INFORMADO UNIDAD DE DIABETES PEDIÁTRICA
HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL:
ESTUDIO FUNCIÓN PULMONAR**

**HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA
PADRES/TUTORES DE SUJETOS CONTROL**

Consciente de la voluntariedad de este estudio, acepto participar en el estudio de la función pulmonar para la identificación de factores de riesgo asociados a la diabetes mellitus 1.

Yo, D/Dña. como persona (mayor de 18 años) o padre/madre/tutor o representante legal de (parentesco), he sido informado y doy mi consentimiento para el estudio de la función pulmonar así como para el uso anónimo de los datos clínicos de cara a su comunicación a la comunidad científica. El tratamiento de los datos se hará con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal y si, además, se transmite a terceros se hará según lo establecido en la mencionada Normativa y el R.D. 994/99.

En consecuencia autorizo al Dr/Dra. a la utilización de dicha información. Tengo derecho al acceso de mis datos, rectificación y cancelación en cualquier momento. Conozco mi derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento sin necesidad de explicar las causas.

Debe saber que este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital donde se va a realizar sin necesidad de contratar una póliza de seguro específica.

Y para que conste firmo el presente original en Madrid, a dede 200 ...

Fdo. Representante Legal (o paciente)

Fdo. Dr.
(Investigador principal/colaborador)

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

CONSENTIMIENTO INFORMADO UNIDAD DE DIABETES PEDIÁTRICA
HOSPITAL UNIVERSITARIO RAMÓN Y CAJAL:
ESTUDIO FUNCIÓN PULMONAR

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL SUJETO
CONTROL MENOR DE EDAD, MAYOR DE 12 AÑOS

Nota a los padres o tutores legales:

Los padres o tutores legales deben firmar la hoja de consentimiento informado para padres o tutores legales. Este formulario de consentimiento informado para el menor maduro mayor de doce años debería ser leído en paralelo con el formulario de información sobre el estudio clínico para padres o tutores legales para obtener una información completa del estudio. Una firma en este formulario sólo no es suficiente para permitir a un niño o a un adolescente menor de edad entrar en el presente estudio.

Te pedimos que participes en este estudio pero antes necesitas saber lo siguiente:

1. Debemos explicarte el estudio para que sepas en qué consiste y debes saber que puedes hacer las preguntas sobre el mismo que quieras para que te aclaremos todas las dudas que te puedan surgir después de la explicación y de la lectura de esta hoja informativa.
2. Está bien decir “no” si tú no quieres participar en el estudio. La participación es voluntaria. Tendrás el mismo tipo de atención aunque no participes.
3. Puedes cambiar de opinión y dejar de participar en el estudio en cualquier momento sin que por eso cambie tu relación con el médico ni tus cuidados. Puedes consultar con cualquier persona que consideres oportuno.
4. El estudio nos servirá para aprender y poder ayudarte a ti y a otros pacientes como tú en el futuro.

Por qué estamos haciendo este estudio

Nos dirigimos a ti para informarte del estudio en el que te invitamos a participar. Te invitamos a participar en este estudio para poder comparar tus resultados con los de otros niños que tienen diabetes mellitus tipo 1, enfermedad que hace que necesiten un cuidado especial, como la administración de insulina para la ingesta de ciertos alimentos.

Quién participará en este estudio y dónde se va a realizar

En este estudio van a participar niños entre los 8 y 18 años de edad que tienen diabetes mellitus tipo 1 y se tratan en el Hospital Ramón y Cajal y otros niños sin dicha enfermedad (como tú).

No hay ningún problema si no quieres participar en el estudio, es tu decisión y la tienes que tomar con libertad y sin presiones.

Qué tienes que hacer si decides participar en el estudio

Si entras a participar en el estudio tendrás que realizar 4 pruebas de función pulmonar coincidiendo con uno de los días que vengas al hospital. Si decides participar en el estudio tendrás primero que firmar este papel y tus padres firmarán otra hoja permitiendo que participes.

Para llevar a cabo el estudio, realizarás unas pruebas de función pulmonar en la planta 3º del hospital, hasta donde te acompañaremos e irás siempre con un familiar. Allí, en el laboratorio, te ayudarán para la realización de unas pruebas de Función Pulmonar que te explicamos en la hoja adjunta que te hemos dado (pruebas en las que tienes que soplar siguiendo las indicaciones del médico).

¿Me va a doler algo por participar en el estudio?

No, ya que para las pruebas de función pulmonar, sólo tienes que soplar por la boca según te vayan indicando. No te preocupes porque en todo momento te van a decir como lo tienes que hacer y te van a animar para que te salga bien. Si no sale bien, no te preocupes porque se puede repetir la prueba sin ningún problema.

¿Qué ocurre si estoy participando en el estudio y luego cambio de opinión?

No tienes que preocuparte, no tienes que estar en el estudio si no quieres. Nadie va a enfadarse contigo. Si empiezas el estudio, puedes pararlo en cualquier momento y debes comunicárnoslo lo antes posible. Es importante que si quieres parar, lo hables con tus padres con total confianza. También puede ocurrir que tu padre, madre o tutor quiera interrumpir el estudio y en ese caso, al ser menor de edad, ellos tienen derecho a decidir esa parte por ti.

¿Me va a costar dinero participar en el estudio?

No os va a costar nada a ti ni a tus padres, salvo la molestia y el desplazamiento que supone venir al hospital una mañana.

¿Verá alguien la información médica sobre mi persona de este estudio?

Las personas que están trabajando en este estudio podrán ver tu información médica; sin embargo, no conservarán una vez finalizado el mismo ninguna información en la que aparezca tu nombre. No se dará tu nombre a nadie que no esté colaborando en el estudio y toda la información que tiene que ver contigo, se guardará de forma confidencial, segura y sólo se utilizará para fines relacionados con el mismo. Todo esto se hace de acuerdo a una ley orgánica (que hace el Gobierno) que se llama Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre, sobre la protección de datos de carácter personal, la cual se hace efectiva de acuerdo a la Directiva Europea de 95/46/EC sobre protección de datos. Tienes derecho a acceder a tus datos personales y, si lo consideras necesario, puedes modificarlos o rectificarlos. Si así lo deseas, debes decírselo a tus padres para que se lo digan al médico que te atiende en el estudio.

¿Cómo me informaré de lo que se descubra en este estudio?

En el momento que tengamos los resultados de tus pruebas, te informaremos cuanto antes; incluso nada más realizar las pruebas, te podremos decir si hay algún resultado anómalo o todo está normal.

Debes saber que este estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital donde se va a realizar sin necesidad de contratar una póliza de seguro específica.

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

ANEXO 10. Información sobre las pruebas a realizar en el estudio de función pulmonar

HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE EN EL ESTUDIO

El estudio se compone de un total de 4 pruebas de función pulmonar que se realizan con 3 aparatos diferentes. Únicamente se necesita su colaboración, siguiendo las indicaciones que le irán dando, que consiste en realizar distintos tipos de respiración. No se utiliza ningún método invasivo ni doloroso. La duración del estudio no será superior a 30 minutos.

1.- ESTUDIO DE LA ESPIROMETRÍA FORZADA

En esta primera parte el estudio, debe mantener una respiración normal durante unos segundos y posteriormente, cuando se le indique, realizará una inspiración máxima (es decir, cogerá el máximo aire posible), para después mantenerlo durante unos escasos segundos dentro de sus pulmonares sin expulsarlo. Finalmente, cuando se lo indiquen, se realizará una espiración máxima forzada (es decir, una expulsión fuerte, rápida y mantenida del aire durante unos segundos) hasta que le indiquen que pare. Esta técnica se repetirá 2 ó 3 veces. Las respiraciones se harán a través de una boquilla específica para cada paciente y con la colocación de pinzas nasales para evitar la respiración nasal que alteraría los resultados del estudio y lo invalidaría.

2.- ESTUDIO DE LA PLETISMOGRAFÍA CORPORAL

En esta parte del estudio, se le colocará sentado en una silla dentro de una cabina de cristal, con contacto visual y auditivo con el exterior (podrá ver y hablar con quien queda fuera de la cabina). Cuando comience la prueba, respirará por la boca a través de una boquilla, se le colocarán unas pinzas nasales para evitar la entrada y salida de

aire por la nariz, y se le pedirá que se sujete las mejillas. Una vez que haga algunas respiraciones tranquilas, se indicará que respire de un modo mucho más rápido. A las 3-4 respiraciones rápidas, mientras continúa respirando, se cerrará el “obturador automático” del aparato para poder hacer las mediciones del estudio (las capacidades pulmonares al final de la espiración) pero usted deberá continuar respirando sin limitaciones. Posteriormente, se le dirá que haga una maniobra de inspiración máxima (es decir, coger el máximo aire posible) y en ese momento se abrirá del “obturador automático” para poder medir otro parámetro pulmonar (la capacidad pulmonar total). Puede ser necesario repetir esta prueba algunas veces para completar el estudio.

3.- ESTUDIO DE LA DIFUSIÓN DE MONÓXIDO DE CARBONO

En el mismo aparato en el que se ha realizado el estudio de espirometría forzada, y tras finalizar el mismo, se le realizará esta prueba. Se le indicará que haga una inspiración máxima (es decir, coger el máximo aire posible) durante un tiempo para introducir a nivel pulmonar un gas de un reservorio conectado al aparato (este gas contiene una concentración conocida de sustancias no nocivas que van a permitir realizar mediciones en el estudio de función pulmonar). Después, se le pedirá que mantenga la respiración durante unos segundos (tiempo que se le indicará durante la prueba) y posteriormente se le animará a expulsar el aire de forma rápida. El aparato determinará el contenido del gas previamente inhalado en el aire expulsado, para analizar la capacidad del pulmón para intercambiar gases. También en esta prueba las respiraciones se harán a través de una boquilla específica para cada paciente y con la

colocación de pinzas nasales para evitar la respiración nasal que alteraría los resultados del estudio y lo invalidaría.

4.- ESTUDIO DE LA DETERMINACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO

En este último estudio, el aparato de medición tiene un tamaño más pequeño que los previos. Tendrá que estar sentado en una silla y sujetar con sus manos el aparato en el que va a realizar el estudio. El aparato tiene una pantalla que le va a servir como ayuda para hacer esta prueba según las indicaciones que se le vayan dando. A través de una boquilla, realizará una inspiración forzada (es decir, cogerá el máximo aire posible) y, a continuación, realizará una espiración mantenida (es decir, expulsará el aire poco a poco) con el apoyo visual y auditivo del aparato de medida que le ayudará en esta tarea. Con esta prueba se determina si existe o no un tipo de inflamación en la vía aérea.

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Karvonen M, Viik_kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. *Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Diabetes Care* 2000;23:1516-1526.
- ² Goday A, Castell C. Incidence of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in Catalonia, Spain. The Catalan Epidemiology Diabetes Study Group. *Diabetologia* 1992;35:267-271.
- ³ Morales F, Barquero J, Pérez M. Incidence of type 1 diabetes among children and young adults (0-29 years) in the province of Badajoz, Spain during 1992 to 1996. *Acta Paediatr* 2000; 89:101-104.
- ⁴ Lora R, Morales F, Arroyo F. Incidence of Type 1 diabetes in children in Caceres, Spain, during 1988-1999. *Diabetes Res Clin Pract* 2005;69:169-174.
- ⁵ López-Siguero JP, Martínez MJ, Moreno JA, Lora A, Martínez A. Evolución de la incidencia de la diabetes mellitas tipo 1 en niños de 0 a 14 años en Málaga (1982-1993). *An Esp Ped* 1997;47:17-22.
- ⁶ Chueca M, Oyarzábal M, Reparaz F, Garigorri JM, Sola A. Incidence of type 1 diabetes mellitus in Navarre Spain (1975-1991). *Acta Pediatr* 1997;86:632-637.
- ⁷ Carrillo A, Grupo de Epidemiología de la Sociedad Canaria de Endocrinología u Nutrición. Incidencia de la diabetes mellitas tipo 1 en las Islas Canarias (1995-1996). *Rev Clin Esp* 2000;200:257-260.
- ⁸ Badillo M, Hermoso F, García JA, Ochoa C, Rodrigo J, Torre SI et al. Epidemiología de la diabetes tipo 1 en menores de 15 años en las provincias de Castilla y León. *An Pediatr (Bar)* 2006;65:15-21.
- ⁹ Zorrila B, Cantarero JL, Barrio R, Ramirez J, Argente J, González A y Registro de Incidencia de Diabetes tipo 1 Consejería de Sanidad, Comunidad de Madrid. Incidencia de diabetes mellitus tipo 1 en niños: resultados del registro poblacional de la Comunidad de Madrid, 1997-2005. *Med Clin (Barc)* 2009;132:545-548.
- ¹⁰ Eurodiab Ace Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 2000;355:873-876.
- ¹¹ Patterson CC, Dahlquist G, Gyürüs E, Green A, Soltész G and the 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;373:2027-2033.
- ¹² Curtis JR, To T. Recent trends in hospitalization for diabetic ketoacidosis in Notario children. *Diabetes Care* 2002;25:1591-1596.
- ¹³ Quinn M, Fleischman A. Characteristics at diagnosis of type 1 diabetes in children younger than 6 years. *J Pediatr* 2006;148:366-371.
- ¹⁴ Estadísticas de Salud 1978-1987. Información Sanitaria y Epidemiológica. Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública 1991.
- ¹⁵ Bluestone JA, Herold K, Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature* 2010;464:1293-1300.
- ¹⁶ Akerbloom HK, Varala O, Hyoty H, Ilonen K, Knip M. Environmental factors in the etiology of type 1 diabetes. *Am J Med Genet* 2002;115:18-29.
- ¹⁷ Feuerer M, Hill J, Mathis D, Benoist C. Foxp3+ regulatory T cells: differentiation, specification, subphenotypes. *Nature Immunol* 2009;10:689-695.

- ¹⁸ Cocannon P, Rich S, Nepom GT. Genetics of type 1A diabetes. *N Engl J Med* 2009;360:1646-1654.
- ¹⁹ Friday RP, Trucco M, Pietropaolo M. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Nutr Metab* 1999;12:3-26.
- ²⁰ Akerblom HK et al. Dietary manipulation of beta cell autoimmunity in infants at increased risk of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetologia* 2005;48:829-837.
- ²¹ Virtanen SM et al. Age at introduction of new foods and advanced beta cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetologia* 2006;49:1512-1521.
- ²² Norris JM et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes. *J Am Med Assoc* 2007;298:1420-1428.
- ²³ Jun HS, Yoon JW. A new look at viruses in type 1 diabetes. *ILAR J* 2004;45:349-374.
- ²⁴ Wen L et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature* 2008;455:1109-1113.
- ²⁵ Nejentsev S et al. Rare variants of IFIH1, a gene implicated in antiviral responses, protect against type 1 diabetes. *Science* 2009;324:387-389.
- ²⁶ Weintrob N et al. Type 1 diabetes environmental factors and correspondence analysis of HLA class II genes in the Yemenite Jewish community in Israel. *Diabetes Care* 2001;24:650-653.
- ²⁷ The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-986.
- ²⁸ UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*.1998;352:837-853.
- ²⁹ Donaghue KC, Fung AT, Hung S, Fairchild J, King J, Chang A et al. The effect of prepubertal diabetes duration on diabetes microvascular complications in early and late adolescence. *Diabetes Care* 1997;20:77-80.
- ³⁰ Svensson M, Eriksson JW, Dahlquist G. Early glycemic control, age at onset, and development of microvascular complications in childhood-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:955-962.
- ³¹ Donaghue KC, Craig ME, Chan AK, Fairchild JM, Cusumano JM, Verge CF et al. Prevalence of diabetes complications 6 years after diagnosis in an incident cohort of childhood diabetes. *Diabet Med* 2005;22:711-718.
- ³² Donaghue KC, Fairchild JM, Craig ME, Chan AK, Hing SH, Cutler LE et al. Do all prepubertal years of diabetes duration contribute equally to diabetes complications? *Diabetes Care* 2003;26:1224-1229.
- ³³ Wertheimer E. Skin and diabetes. En: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM. *Diabetes Mellitus: a fundamental and clinical text*. 3rd ed. Philadelphia (USA): Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p.1411-1422.

-
- ³⁴ Krause MP, Riddell MC, Hawke TJ. Effects of type 1 diabetes mellitus on skeletal muscle: clinical observations and physiological mechanism. *Pediatric Diabetes* 2011;12:345-364.
- ³⁵ Tsujino T, Kawasaki D, Masuyama T. Left ventricular diastolic dysfunction in diabetic patients: pathophysiology and therapeutic implications. *Am J Cardiovasc Drugs* 2006;6:219-230.
- ³⁶ Aronson D. Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications. *Adv Cardiol* 2008;45:1-16.
- ³⁷ Orasanu G, Plutzky J. The pathologic continuum of diabetic vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:S35-42.
- ³⁸ Hammes HP. Pathophysiological mechanism of diabetic angiopathy. *J Diabetes Complications* 2003;17:S16-19.
- ³⁹ Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-820.
- ⁴⁰ Stehouwer CDA, Lambert J, Donker AJM, Van Hinsbergh VWM. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovascular Research* 1997;34:55-68.
- ⁴¹ Rask-Madsen C, He Z, King GL. Mechanism of diabetic microvascular complications. In: Kahn CR, Weis GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 14th ed. Boston: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p.823-837.
- ⁴² Hofmann S, Brownlee. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. A unifying mechanism. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM. *Diabetes Mellitus. A fundamental and clinical text*. 3rd ed. Philadelphia: Pippincott Williams & Wilkins; 2004. p.1441-1456.
- ⁴³ Brownlee M, Vlassara H. Non-enzymated glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984;101:527-537.
- ⁴⁴ Yamagishi S, Nakamura K, Imaizumi T. Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic vascular complications. *Curr Diab Rev* 2005;1:93-106.
- ⁴⁵ Vlassara H, Bucala R, Striker. P athogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994;70:138-151.
- ⁴⁶ Brownlee M. Glycation and diabetic complications. *Diabetes* 1994;43:836-841.
- ⁴⁷ Wells L, Vosseller K, Hart GW. Glycosylation of nucleocytoplasmatic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. *Science* 2001;291:2376-2378.
- ⁴⁸ James LR, Tang D, Ingram A et al. Flux through the hexosamine pathway is a determinant of nuclear factor kappaB- dependent promoter activation. *Diabetes* 2002;51:1146-1156.
- ⁴⁹ Williams B, GallacherB, Patel H, Orme C. Glucose-induced proteína kinase C activation regulates vascular permability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes* 1997;46:1497-1503.
- ⁵⁰ Ceriello A. coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 1993;36:1119-1125.

-
- ⁵¹ Ceiello A, Giacomello R, Stel G et al. Hyperglycemia-induced thrombin formation in diabetes. The possible role of oxidative stress. *Diabetes* 1995;44:924-928.
- ⁵² Ding Y, Vaziri ND, Coulson R, ET AL. Effects of simulated hyperglycemia, insulin and glucagon on endothelial nitric oxide synthase expression. *AM J Physiol Endocrinol Metab* 2000;279:E11-E17.
- ⁵³ Cosentino F, Eto M, De Paolis P, et al. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species. *Circulation* 2003;107:1017-1023.
- ⁵⁴ Hopfner RL, Gopalakrishnan V. Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications. *Diabetologia* 1999;42: 1383-1394.
- ⁵⁵ Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991;40:405-412.
- ⁵⁶ Ceriello A, dello Russo P, Amstad P, Cerutti P. High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. Evidence linking hyperglycemia and oxidative stress. *Diabetes* 1996;45:471-477.
- ⁵⁷ Rogus JJ, Warram JH, Krolewski AS. Genetic studies of late diabetic complications. *Diabetes* 2002;51:1655-1662.
- ⁵⁸ Rahbar S. Glycosylated hemoglobins. *Tex Rep Biol Med* 1980-1981;40:373-85.
- ⁵⁹ Silverstein J, Klingensmith G, Copeland K, Plotnick L, Kaufman F, Laffel L, Deeb L, Grey M, Anderson B, Holzmeister LA, Clark N; American Diabetes Association. Care of children and adolescents with type 1 diabetes: a statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2005 Jan;28(1):186-212.
- ⁶⁰ The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of the intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Pediatr* 1994;125:177-188.
- ⁶¹ Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group: design, implementation, and preliminary results of a long-term follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care* 1999;22:99-111.
- ⁶² The Diabetes Control and Complications Trial(DCCT)/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group. Beneficial effects on intensive therapy of diabetes during adolescence: Outcomes after the conclusion of the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). *J Pediatr* 2001;139:804-812.
- ⁶³ The Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study: Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy. *JAMA* 2003;209:2159-2167.
- ⁶⁴ Effect of prior intensive therapy in type 1 diabetes on 10-year progression of retinopathy in the DCCT/EDIC: comparison of adults and adolescents. *Diabetes* 2010;59:1244-1253.
- ⁶⁵ Effect of prior intensive insulin treatment during the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on peripheral neuropathy in type 1 diabetes during the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study. *Diabetes Care* 2010;33:1090-1096.

-
- ⁶⁶ J. López-Herce, J. Urbano, A. Carrillo. Fisiología de la respiración. En: N. Cobos, E.G. Pérez-Yarza. Tratado de Neumología Infantil. 2ª ed. Mahadahonda (Madrid): Ergon; 2009. p.21-42.
- ⁶⁷ S. Liñán, C. Reverté, N. Cobos. Exploración de la función respiratoria en el niño colaborador. En: N. Cobos, E.G. Pérez-Yarza. Tratado de Neumología Infantil. 2ª ed. Mahadahonda (Madrid): Ergon; 2009. p.151-188.
- ⁶⁸ Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils and methacoline responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998;53:91-95.
- ⁶⁹ Baraldi E, Carra S, Dario C, Azzolin N, Ongaro R, Marcer G. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled NO in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:262-266.
- ⁷⁰ Buchvald F, Bisgaard H. FeNo Measured at fix exhalation flow rate during controlled tidal breathing in children from the age of 2 years. *Am j Respir Crit Care Med* 2001;163:699-704.
- ⁷¹ Perejda AJ, Uitto J. Nonenzymatic glycosylation of collagen and the other proteins. Relationship to development of diabetic complications. *Coll Relat Res* 1982;2:82-88.
- ⁷² Brownlee M, Cerami A. The biochemistry of the complications of diabetes mellitus. *Annu Rev Biochem* 1981;50:385-432.
- ⁷³ Eaton RP. The collagen hydration hypothesis: a new paradigm for the secondary complications of diabetes mellitus. *J Chron* 1986;39:763-766.
- ⁷⁴ Kennedy L, Baynes JW. Non-enzymatic glycosylation and the chronic complications of the diabetes, an overview. *Diabetologia* 1984;26:93-98.
- ⁷⁵ Sternberg M, Cohen-Fortere L, Peyroux J. Connective tissue in diabetes mellitus, biochemical alterations of the intercellular matrix with special reference to proteoglycans, collagens and basement membranes. *Diabet Metab* 1985;11:27-50.
- ⁷⁶ Collier A, Patrick AW, Bell D. Relationship of skin thickness to duration of diabetes, glycemic control and diabetic complications in male IDDM patients. *Diabetes Care* 1989;12:309-312.
- ⁷⁷ Hamlin CR, Kohn RR, Luschin JH. Apparent accelerated aging of human collagen in diabetes mellitus. *Diabetes* 1975;24:902-904.
- ⁷⁸ Hsia CC, Raskin P. The diabetic lung: relevance of alveolar microangiopathy for the use of inhaled insulin. *Am J Med* 2005;118:205-211.
- ⁷⁹ Kida K, Utsuyama M, Takizawa T, Thurlbleck WM. Changes in lung morphologic features and elasticity caused by streptozotocin-induced diabetes mellitus in growing rats. *Am Rev Respir Dis* 1983;128: 125-131.
- ⁸⁰ Popov D, Hasu M, Costache G, Stern D, Simionescu M. Capillary and aortic endothelia interact in situ with nonenzymatically glycosylated albumin and develop specific alterations in early experimental diabetes. *Acta Diabetol Lat* 1997;34:285-293.
- ⁸¹ Vracho R, Thorning D, Huang TW. Basal lamina of alveolar epithelium and capillaries: quantitative changes with ageing in diabetes mellitus. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:973-983.

-
- ⁸² Kodolova IM, Lysenko IV, Saltykov BB. Changes in de lung in diabetes mellitus. *Arkh Patol* 1982;44:35-40.
- ⁸³ Weynand B, Jonckheere A, Frans A, Rahier J. Diabetes mellitus induces a thickening of pulmonary basal lamina. *Respiration* 1999;66:14-19.
- ⁸⁴ Matsubara T, Hara F. The pulmonary function and histopathological studies of the lung in Diabetes Mellitus. *Nippon Ika Daigaku Zasshi* 1991;58:528-536.
- ⁸⁵ Watanabe K, Senju S, Toyoshima H, Yoshida M. Thickness of the basement membrane of bronchial epithelial cells in lung diseases as determined by transbronchial biopsy. *Resp Med* 1997;9:406-410.
- ⁸⁶ Vracko R, Pecoraro RE, Carter WB. Overview article. Basal lamina of epidermis, muscle fibres, muscle capillaries and renal tubules: Changes with aging and in diabetes mellitus. *Ultrastruct Pathol* 1980;1:559-574.
- ⁸⁷ Plopper CG, Morishige WK. Alterations in granular (type II) pneumocyte ultrastructure by streptozotocin-induced diabetes in the rat. *Lab Invest* 1978;38:143-148.
- ⁸⁸ Plopper CG, Morishige WK. Alterations in the ultrastructure of non-ciliated bronchiolar epithelial (Clara) cells by streptozotocin-induced diabetes in the rat. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:1137-1143.
- ⁸⁹ Ofulue AF, Kida K, Thurbleck WM. Experimental diabetes and the lung: I. Changes in growth, morphometry and biochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:162-166.
- ⁹⁰ Montserrat JM, Cochrane GM, Wolf C, Picado C, Roca J, Agusti Vidal A. Ventilatory control in diabetes mellitus. *Eur J Respir Dis* 1985;67:112-117.
- ⁹¹ Williams JG, Morris AI, Hayter RC, Ogilvie CM. Respiratory responses of diabetics to hypoxia, hypercapnia, and exercise. *Thorax* 1984;39:529-534.
- ⁹² Nishimura M, Miyamoto K, Suzuki A, Yamamoto H, Tsuji M, Kishi F, Kawakami Y. Ventilatory and heart rate responses to hypoxia and hypercapnia in patients with diabetes mellitus. *Thorax* 1989;44:251-257.
- ⁹³ Bottini P, Scionti L, Santeusano F, Casucci G, Tantucci C. Impairment of the respiratory system in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Nutr Metab* 2000;13:165-172.
- ⁹⁴ Wanke T, Abrahamian H, Lahrman H, Formanek D, Merkle M, Auinger M, Zwick H, Irsigler K. No effect of naloxone on ventilatory response to progressive hypercapnia in IDDM patients. *Diabetes* 1993;42:282-287.
- ⁹⁵ Homma I, Kageyama S, Nagai T, Taniguchi I, Sakai T, Abé M. Chemosensitivity in patients with diabetic neuropathy. *Clin Sci (Lond)* 1981;61:599-603.
- ⁹⁶ Sobotka PA, Liss HP, Vinik AI. Impaired hypoxic ventilatory drive in diabetic patients with autonomic neuropathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:658-663.
- ⁹⁷ Soler NG, Eagleton LE. Autonomic neuropathy and the ventilatory responses of diabetics to progressive hypoxemia and hypercarbia. *Diabetes* 1982;31:609-614.

-
- ⁹⁸ Calverley PM, Ewing DJ, Campbell IW, Wraith PK, Brash HM, Clarke BF, Flenley DC. Preservation of the hypoxic drive to breathing in diabetic autonomic neuropathy. *Clin Sci (Lond)* 1982;63:17-22.
- ⁹⁹ Hansen LA, Prakash UBS, Colby TV. Pulmonary complications in diabetes mellitus. *Mayo Clin proc* 1989;64:791-799.
- ¹⁰⁰ Bottini P, Dottorini ML, Cristina Cordoni M, Casucci G, Tantucci C. Sleep-disordered breathing in nonobese diabetic subjects with autonomic neuropathy. *Eur Respir J* 2003;22:654-660.
- ¹⁰¹ Resnick HE, Redline S, Shahar E. Diabetes and sleep disturbances: findings from the Sleep Heart Health Study. *Diabetes Care* 2003;26:702-709.
- ¹⁰² Wanke T, Formanek D, Auinger M. Mechanical load on the inspiratory muscles during exercise hyperpnea in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1992;35:425-428.
- ¹⁰³ Vianna LG, Gilbey SG, Barnes NC, Guy RJ, Gray BJ. Cough threshold to citric acid in diabetic patient with and without autonomic neuropathy. *Thorax* 1988;43:569-571.
- ¹⁰⁴ Douglas NJ, Campbell IW, Ewing DJ, Clarke BF, Flenley DC. Reduced airway vagal tone in diabetic patients with autonomic neuropathy. *Clin Sci (Lond)* 1981;61:581-584.
- ¹⁰⁵ Heaton RW, Guy RJ, Gray BJ, Watkins PJ, Costello JF. Diminished bronchial reactivity to cold air in diabetic patients with autonomic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984;289:149-151.
- ¹⁰⁶ Scano G, Seghieri G, Mancini M, Filippelli M, Duranti R, Fabbri A, Innocenti F, Iandelli I, Misuri G. Dyspnoea, peripheral airway involvement and respiratory muscle effort in patients with type I diabetes mellitus under good metabolic control. *Clin Sci (Lond)* 1999;96:499-506.
- ¹⁰⁷ Schuyler MR, Niewoehner DE, Inkley SR, Kohn R. Abnormal lung elasticity in juvenile diabetes mellitus. *Am Rev Respir Dis* 1976;113:37-41.
- ¹⁰⁸ Schernthaner G, Haber P, Kummer R, Ludwig H. Lung elasticity in juvenile onset diabetes mellitus. *Am Rev Respir Dis* 1977;116:544-546.
- ¹⁰⁹ Asanuma Y, Fujiya S, Ide H, Agishi Y. Characteristics of pulmonary function in patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Res Clinical Pract* 1985;1:95-101.
- ¹¹⁰ Sandler M, Bunn AE, Stewart RI. Cross-section study of pulmonary function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:223-229.
- ¹¹¹ Bell D, Collier A, Matthews DM, Cooksey EJ, McHardy GJ, Clarke BF. Are reduced lung volumes in IDDM due to defect in connective tissue? *Diabetes* 1988;37:829-831.
- ¹¹² Innocenti F, Fabbri A, Anichini R, Tuci S, Pettina G, Vannucci F, De Giorgio LA, Seghiere G. Indications of reduced pulmonary function in Type 1 (insulin-dependent) Diabetes Mellitus. *Diabetes Res Clinical Pract* 1994;25:161-168.
- ¹¹³ Sandler M, Bunn AE, Stewart RI. Pulmonary function in young insulin-dependent diabetic subjects. *Chest* 1986;90:670-675.
- ¹¹⁴ Cooper BG, Taylor R, Alberti KG, Gibson GJ. Lung function in patients with diabetes mellitus. *Respir Med* 1990;84:235-239.

- ¹¹⁵ Oulhen PH, Barthelemy L, Bellet-Barthas M, Darragon T. Respiratory function study on insulin-dependent diabetics. *Rev Fr Mal Respir* 1982;10:213-214.
- ¹¹⁶ Strojek K, Ziora D, Sroczynski JW, Oklek K. Pulmonary complications of Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 1992;35:1173-1176.
- ¹¹⁷ Maccioni FJ, Colebatch HJ. Lung volume and distensibility in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:1253-1256.
- ¹¹⁸ Weir DC, Jennings PE, Hendy MS, Barnett AH, Sherwood Burge P. Transfer factor for carbon monoxide in patients with diabetes with and without microangiopathy. *Thorax* 1988;43:725-726.
- ¹¹⁹ Britton J. Is the carbon monoxide transfer factor diminished on the presence of diabetic retinopathy in patients with insulin-dependent diabetes mellitus? *Eur Respir J* 1988;1:403-406.
- ¹²⁰ Fuso L, Basso S, de Rosa M, Pistelli R, Cotroneo P, Manto A, Ghirlanda G. Postural variation of pulmonary diffusing capacity in insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Chest* 1996;110:1009-1013.
- ¹²¹ Schnack C, Festa A, Schwarzmaier-D'Assié A, Haber P, Scherthaner G: Pulmonary dysfunction in Type 1 Diabetes in relation to metabolic long-term control and to incipient diabetic nephropathy. *Nephron* 1996;74:395-400.
- ¹²² Benbassat CA, Stern E, Kramer M, Lebzelter J, Blum I, Fink G. Pulmonary function in patients with Diabetes Mellitus. *The American Journal of the Medical Sciences* 2001;322:127-132.
- ¹²³ Heimer D, Bami J, Lieberman D, Bark H. Respiratory muscle performance in patients with type 1 diabetes. *Diabet Med* 1990;7:434-437.
- ¹²⁴ Barta L. Flexion contractures in a diabetic child. *Eur J Pediatr* 1980;135:101-102.
- ¹²⁵ Schnapf BM, Banks RA, Silverstein JH, Rosebloom AL, Chesrown SE, Loughlin GM. Pulmonary function in insulin-dependent diabetes mellitus with limited joint mobility. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:930-932.
- ¹²⁶ Buckingham B, Perejda AJ, Sandborg C, Kershner AK, Uitto J. Skin, joint and pulmonary changes in Type 1 Diabetes Mellitus. *Am J Dis Child* 1986;140:420-423.
- ¹²⁷ Madacsy L. Joint and pulmonary changes in diabetes. *Am J Dis Child* 1987;141:244-245.
- ¹²⁸ Sandler M. Is the lung a "target organ" in Diabetes Mellitus. *Arch Intern Med* 1990;150:1385-1388.
- ¹²⁹ Boulbou MS, Gourgouljanis KI, Klisiaris VK, Tskrikas TS, Stathakis NE, Molyvdas PA. Diabetes Mellitus and lung function. *Medi Princ Pract* 2003;12:87-91.
- ¹³⁰ Kuziemski K, Gorska L, Jassem E, Madej-Dmochowska A. Lung microangiopathy in diabetes. *Pneumonol Alergol Pol* 2009;77:394-399.
- ¹³¹ Ford E. Body mass index, diabetes and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care* 1999;22:1971-1977.

-
- ¹³² Lange P, Parner J, Schnohr P, Jensen G. Copenhagen City Heart Study: longitudinal analysis of ventilatory capacity in diabetic and nondiabetic adults. *Eur Respir J* 2002;20:1406-1412.
- ¹³³ Ramirez LC, Dal Nogare A, Hsia C, Arauz C, Butt I, Strowig SM, Schnurr-Breen L, Raskin P. Relationship between diabetes control and pulmonary function in insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Am J Med* 1991;91:371-376.
- ¹³⁴ Niranjana V, McBrayer DG, Ramirez LC, Raskin P, Hsia CCW. Glycemic control and cardiopulmonary function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1997;103:504-513.
- ¹³⁵ Lujbic S, Metelko Z, Car N, Roglic G, Drazic Z. Reduction of diffusion capacity for carbon monoxide in diabetic patients. *Chest* 1998;114:1033-1035.
- ¹³⁶ Primhak RA, Whincup G. Reduced vital capacity in insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 1987;36:324-326.
- ¹³⁷ Villa MP, Cacciari E, Bernardi F, Cicognani A, Salardi S, Zappulla F. Bronchial Reactivity in diabetic patients. Relationship to duration of diabetes and degree of glycemic control. *Am J Dis Child* 1988;142:726-729.
- ¹³⁸ Verrotti A, Verini M, Chiarelli F, Verdesca V, Misticioni G, Morgese G. Pulmonary function in diabetic children with and without persistent microalbuminuria. *Diabetes Res Clinical Pract* 1993;21:171-176.
- ¹³⁹ Van Gent R, Brackel HJL, de Vroede M, Van der Ent CK. Lung function abnormalities in children with type 1 diabetes. *Respiratory Medicine* 2002;96:976-978.
- ¹⁴⁰ Cazzato S, Bernardi F. Lung function in children with diabetes mellitus. *Pediatr Pulmonol* 2004;37:17-23.
- ¹⁴¹ Villa M, Montesano M. Diffusing capacity for carbon monoxide in children with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004;47:1931-1935.
- ¹⁴² Al-Saadi MM, Meo SA, Al-Drees AM, Mohamed S, Shaikh SA, Al-Rubeaan K. Lung functions in poorly controlled type 1 Saudi diabetic children and adolescents. *Saudi Med J* 2011;32:778-783.
- ¹⁴³ Klein BE, Moss S, Klein R, Cruickshanks K. Is peak expiratory flow rate a predictor of complications in diabetes? The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Complications* 2001;15:301-306.
- ¹⁴⁴ Klein BE, Moss S, Klein R, Cruickshanks K. Peak expiratory flow rate: relationship to risk variables and mortality. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care* 2001;24:1967-1971.
- ¹⁴⁵ Goldman MD. Lung dysfunction in diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:1915-1918.
- ¹⁴⁶ Skyler JS, Cefalu W, Kourides I, Landschulz W, Balagtas C, Chen S for the Inhaled Insulin Phase II Study Group. Efficacy of inhaled human insulin in type 1 diabetes mellitus: a randomised proof-of-concept study. *Lancet* 2001;357:331-335.
- ¹⁴⁷ Correspondence to the Lancet. Inhaled insulin in type 1 diabetes. *Lancet* 2001;357:1979-1980.

- ¹⁴⁸ Donaghue K, Chiarelli F, Trotta D, Allgrove J, Dahl-Jorgensen K. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2009. Microvascular and macrovascular complications associated with diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009;10(Suppl 12):195–203.
- ¹⁴⁹ Carrascosa A, Ferrández A, Yeste D, et al. *An Pediatr (Barc)* 2008;68:544-551.
- ¹⁵⁰ Tanner JM. *Growth at adolescence*. 2nd ed. Oxford: Blackwell; 1962.
- ¹⁵¹ Task Force on Blood Pressure Control in Children. Report of the second Task Force on blood pressure control in children. *Pediatrics* 1987;79:1-26.
- ¹⁵² Microalbuminuria Collaborative Study Group, United Kingdom Risk factor for the development of microalbuminuria in insulin dependent diabetic patients: a cohort study. *BMJ* 1993;306:1235-1239.
- ¹⁵³ Ewing DJ, Clarke BF. Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 1982;2:916-918.
- ¹⁵⁴ Rosenbloom AL, Silverstein JH, Lezotte DC, Richardson K, McCallum M. Limited joint mobility in childhood diabetes mellitus increased risk for microvascular disease. *N Engl Med* 1981;305:191-194.
- ¹⁵⁵ ECSS. Report for working party on standardization of lung function tests. *Eur Respir J* 1993; 6: 16.
- ¹⁵⁶ Zapletal A, Samanek M, Paul T. *Lung function in children and adolescents: methods, reference values*. Karger: Basel, 1987.
- ¹⁵⁷ Stam H, Beek A, Grünberg K, Stijnen T, Tiddens HAWM, Versprille A. Pulmonary diffusing capacity at reduced alveolar volumes in children. *Pediatr Pulmonol* 1996;21:84-89.
- ¹⁵⁸ Rosenthal M, Bain SH, Cramer D, Helms P, Denison D, Bush A, Warner JO. Lung function in white children aged 4 to 19 years: I-Spirometry. *Thorax* 1993;48:794-802.
- ¹⁵⁹ Rosenthal M, Cramer D, Bain SH, Denison D, Bush A, Warner JO. Lung function in white children aged 4 to 19 years: II-Single breath analysis and plethysmography. *Thorax* 1993;48:803-808.
- ¹⁶⁰ ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the online and offline measurement of exhaled respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912-930.
- ¹⁶¹ Belsley DA. *Conditioning Diagnostics: Collinearity and Weak Data in Regression*. New York: John Wiley & Sons, 1991.
- ¹⁶² Schrader PC, Quanjer PH, van Zomeren BC, Ise ME. Changes in FEV1-height relationship during pubertal growth. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1984;20:381-388.
- ¹⁶³ Wheatley CM, Baldi JC, Cassuto NA, Foxx-Lupo WT, Snyder EM. Glycemic control influences lung membrane diffusion and oxygen saturation in exercise-trained subjects with type 1 diabetes: alveolar-capillary membrane conductance in type 1 diabetes. *Eur J Appl Physiol* 2011;111:567-578.
- ¹⁶⁴ Muller M, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi G et al. “SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing”. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J* 2005;26:153-161.

- ¹⁶⁵ Muller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburr R, Coates A et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319-338.
- ¹⁶⁶ Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo R, Burgos F, Casaburi R et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005;26:153-161.
- ¹⁶⁷ Muller M, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi G et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". General considerations for lung function testing. *Eur Respir J* 2005;26:153-161.
- ¹⁶⁸ Muller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburr R, Coates A et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319-338.
- ¹⁶⁹ Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo R, Burgos F, Casaburi R et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005;26:153-161.
- ¹⁷⁰ MacIntyre N, Crapo R, Viegi G, Johnson DC, Van der Grinten M, Brusasco V et al. "SERIES ATS/ERS TASK FORCE: Standardisation of lung function testing". Standardisation of the single breath determination of carbon monoxide uptake in the lung. *Eur Respir J* 2005;26:720-735.
- ¹⁷¹ American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-2117.