

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Papel del receptor 2 de $\text{TNF}\alpha$ (TNFR2)
en el desarrollo de disfunción endotelial asociada a
hiperglucemia

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Patricia Pulido Pérez

Dirección

D. C. Ricardo Pérez Fuentes
D. C. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlax.

Octubre, 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Papel del receptor 2 de TNF α (TNFR2)
en el desarrollo de disfunción endotelial asociada a
hiperglucemia

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Patricia Pulido Pérez

Dirección

D. C. Ricardo Pérez Fuentes
D. C. Jorge Rodríguez Antolín

Comité Tutorial

D. C. Estela Cuevas Romero
D. C. Enrique Torres Rasgado
Ph. D. Jose Ricardo Romero

Financiamiento

El presente trabajo fue realizado en la Unidad de Medicina Familiar No. 2 del Instituto Mexicano del Seguro Social, IMSS-Puebla, en el Laboratorio de Investigación en Enfermedades Crónicas del CIBIOR-IMSS; el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN y en el Endocrinology and Diabetes Laboratory del Brigham and Women's Hospital.

El financiamiento para el presente trabajo fue otorgado en forma parcial por el Laboratorio de Investigación en Enfermedades Crónicas del CIBIOR-IMSS, Puebla; por la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Universidad Autónoma de Puebla, a través de los apoyos PERF-SAL17-G otorgado al D. C. Ricardo Pérez Fuentes y TORE-SAL17-1 otorgado al D. C. Enrique Torres Rasgado y por el Grant R01-HL096518 del National Heart, Lung, and Blood Institute of the National Institutes of Health (USA) otorgado al Ph. D. Jose Ricardo Romero.

No omitiendo mencionar el apoyo del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala que está registrado en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP).

Autorización



Posgrado en Ciencias Biológicas
 Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
 Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



**COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
 UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
 P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Patricia Pulido Pérez** realiza para la obtención del grado de **Doctora en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Papel del receptor 2 de TNF α (TNFR2) en el desarrollo de disfunción endotelial asociada a hiperglucemia”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
 TLAXCALA, TLAX., SEPTIEMBRE 28 DE 2021


 DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ


 DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO


 DR. ENRIQUE TORRES RASGADO


 DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO


 DRA. GUADALUPE RUIZ VIVANCO


 DR. JOSÉ RICARDO ROMERO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
 ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



Oficio de autorización bioética



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN ESTATAL EN PUEBLA
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR NO. 2
LIFEC-CIBIOR



COMITÉ ACADÉMICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por la estudiante **Patricia Pulido Pérez** titulada “**Papel del receptor 2 de TNF α (TNFR2) en el desarrollo de disfunción endotelial asociada a hiperglucemia**” para optar por su grado de **Doctora en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de **Patricia Pulido Pérez** fue revisado por nosotros como Co-directores de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de agosto, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando un texto con 18% de similitud. Los textos detectados con similitud fueron corregidos por la estudiante. Se volvió a procesar el documento y marco 16%, sin embargo, examinando los detalles de la búsqueda se observó que las similitudes están marcadas en las abreviaturas de las tablas, pies de tabla y pies de figura, pero dicho texto corresponde a términos clínicos de uso común y cuando corresponde, contiene las respectivas citas que indican de donde fue tomada la información. Otras similitudes se observaron en la sección del índice y la metodología, correspondiendo a lenguaje académico de uso frecuente.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN ESTATAL EN PUEBLA
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR NO. 2
LIFEC-CIBIOR



Adicionalmente, se marcó coincidencia en los textos que corresponden a la publicación de los datos en el artículo científico escrito por la estudiante, denominado *“Disordered glycemc control in women with type 2 diabetes is associated with increased TNF receptor-2 levels”*, publicado en el **Journal Diabetes and its Complications** y que aparece en el sitio web del Journal desde el mes de junio del presente año, por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmamos que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE

Tlaxcala, Tlax., a 03 de septiembre de 2021

D. C. Ricardo Pérez Fuentes
Co-Director de tesis

D. C. Jorge Rodríguez Antolín
Co-Director de tesis

Agradecimientos

Al Doctorado en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el otorgamiento de la Beca para Estudios de Posgrado (CVU 255924/ número de registro 324876).

A los directores de tesis, el D.C. Jorge Rodríguez Antolín y D.C. Ricardo Pérez Fuentes y a los miembros del Comité Tutorial: la D.C. Estela Cuevas Romero, el D.C. Enrique Torres Rasgado y al Ph. D. Jose Ricardo Romero.

Al D. C. José Luis Rosales Encina, Investigador del Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Infectómica y Patogénesis Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

A los pacientes, trabajadores médicos y no médicos y al Laboratorio Clínico de la Unidad de Medicina Familiar No. 2 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Puebla, por su gran apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Dedicatoria

A ti, a quien mi mente todavía le habla y mi corazón todavía le busca, porque seguirás en mi memoria y en mis recuerdos, allí, donde nadie te toca, donde nada te lastima, donde nada duele, donde cada vez que te busque, pueda encontrarte, porque, aunque tus alas estaban listas para volar, mi corazón no estaba listo para verte partir.

Lista de abreviaturas

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AGEs	Productos finales de glicación avanzada
AG-II	Angiotensina-II
AP-1	Proteína activadora 1
ATF2	Factor de transcripción activador 2
DT2	Diabetes tipo 2
EDHF	Factor de hiperpolarización derivado del endotelio
EHF	Factor hiperpolarizante endotelial
ELAM1	Molécula de adhesión endotelial 1
eNOS	Óxido nítrico sintetasa
EROs	Especies reactivas de oxígeno
ET-1	Endotelina-1
EVC	Enfermedad cardiovascular
FADD	Dominio de muerte asociado a Fas
FRS	Puntuación de riesgo Framingham
FT	Factor tisular
GA	Glucosa de ayuno
GAA	Glucemia alterada de ayuno
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HOMA	Modelo de Evaluación Homeostático
hsPCR	Proteína C reactiva de alta sensibilidad
HTA	Hipertensión arterial
HUVEC	Células endoteliales de vena umbilical humana

ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular-1
IKK	Complejo cinasa I κ B
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
iNOS	Óxido nítrico sintetasa inducible
JNK	Cinasa c-Jun N-terminal
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógeno
MCP-1	Factor quimiotáctico del monocito (MCP-1)
NADPH	Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato
NF- κ B	Factor de transcripción nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
NPC	Péptido natriurético C
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica
PADGEM	Proteína de membrana de gránulos 140
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1
PAS	Presión arterial sistólica
PCR	Proteína C reactiva
PFG	Prolina-fenilamina-glicina
PGE2	Prostaglandina E2
PGI2	Prostaciclina-2
PKC	Proteína cinasa C
PRKG	Proteína cinasa dependiente de la cGMP
RI	Resistencia a la insulina
RIP	Proteína cinasa de serina/treonina asociada a receptor
SGLT2	Cotransportador de sodio-glucosa 2
sICAM-1	Molécula de adhesión intercelular soluble

SM	Síndrome metabólico
SR	Sujetos en riesgo
sTNF	TNF soluble
sTNFR1	Receptor soluble 1 de TNF
sTNFR2	Receptor soluble 2 de TNF
TACE	Enzima convertidora del TNF
TAG	Tolerancia alterada a la glucosa
TF	Factor tisular
TGC	Triglicéridos
TGF- β	Factor de crecimiento transformante- β
TIMP3	Inhibidor tisular de la metaloproteinasa de matriz 3
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNFR1	Receptor-1 de TNF
TNFR2	Receptor-2 de TNF
TOG	Tolerancia oral a la glucosa
tPA	Activador tisular del plasminógeno
TRADD	Dominio de muerte asociado al receptor del TNF
TRAF2	Factor asociado al receptor de TNF
TxA2	Tromboxano A2
VCAM-1	Molécula de adhesión celular vascular 1
VWF	Factor de von Willebrand

Índice de tablas

Tabla 1	Clasificación de los factores de riesgo para el desarrollo de DT2.	4
Tabla 2	Funciones y factores involucrados en la función endotelial.	7
Tabla 3	Asociación de la disfunción endotelial con las complicaciones vasculares.	9
Tabla 4	VARIABLES CLÍNICAS Y METABÓLICAS REALIZADAS EN LA COHORTE.	27
Tabla 5	Ensayos de ELISA realizadas en la cohorte de estudio.	28
Tabla 6	Características demográficas y clínicas la población de estudio.	32
Tabla 7	Características metabólicas de la población total de estudio.	33
Tabla 8	Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas en la población total.	34
Tabla 9	Correlación del sTNFR1 con las variables metabólicas en la población total.	35
Tabla 10	Correlación del sTNF con las variables metabólicas en la población total.	36
Tabla 11	Características clínicas y antropométricas de los SR y pacientes DT2.	37
Tabla 12	Características metabólicas de los SR y pacientes DT2.	38
Tabla 13	Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.	42
Tabla 14	Correlación del sTNF con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.	43

Tabla 15	Correlación del sTNFR1 con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.	44
Tabla 16	Análisis de regresión lineal múltiple para sTNFR2 en los pacientes DT2.	48
Tabla 17	Características de los pacientes DT2 según el control glucémico.	49
Tabla 18	Sistema TNF en los pacientes DT2 según el control glucémico.	50
Tabla 19	Sistema TNF en los pacientes según el género y el diagnóstico de DT2.	51
Tabla 20	VARIABLES metabólicas en los SR por género.	53
Tabla 21	VARIABLES metabólicas en los pacientes DT2 por género.	54
Tabla 22	VARIABLES inflamatorias y de función endotelial en la población total.	56
Tabla 23	Análisis de correlación del sistema TNF con las variables inflamatorias y de función endotelial en la población total.	57
Tabla 24	VARIABLES inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2.	58
Tabla 25	Correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2.	59
Tabla 26	Comparación de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 según el control glucémico.	60
Tabla 27	Niveles plasmáticos de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 por género.	62
Tabla 28	Niveles plasmáticos del sistema TNF según el riesgo cardiovascular.	102
Tabla 29	Análisis de correlación del sTNF con las variables del metabolismo de carbohidratos por riesgo cardiovascular.	104

Tabla 30	Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables del metabolismo glucémico por riesgo cardiovascular.	105
Tabla 31	VARIABLES inflamatorias y de función endotelial según el riesgo cardiovascular.	106
Tabla 32	Correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.	107
Tabla 33	Correlación del sTNF con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.	108
Tabla 34	Análisis de correlación del sTNFR1 con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.	109
Tabla 35	VARIABLES metabólicas por diagnóstico de menopausia.	110
Tabla 36	Asociación del riesgo cardiovascular con las variables metabólicas en mujeres sin y con menopausia.	112
Tabla 37	Análisis de regresión lineal múltiple para sTNFR2 en las mujeres con menopausia.	114
Tabla 38	Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas según menopausia.	115
Tabla 39	Correlación del sTNF con las variables metabólicas según menopausia.	116
Tabla 40	Comparación de las variables inflamatorias y de función endotelial según menopausia.	119

Índice de figuras

Figura 1	Fisiología de la DT2.	1
Figura 2	Biología del TNF y sus receptores TNFR1 y TNFR2.	14
Figura 3	Estructura del TNFR2.	17
Figura 4	Señalización estimulada por TNF río abajo.	18
Figura 5	Estrategia de trabajo llevada a cabo en el proyecto.	30
Figura 6	Niveles circulantes del sTNFR2 para los SR y los pacientes DT2.	39
Figura 7	Niveles circulantes del sTNFR1 para SR y los pacientes DT2.	40
Figura 8	Niveles circulantes del sTNF para SR y los pacientes con DT2.	41
Figura 9	Correlación del sTNFR2 con control glucémico en SR y pacientes DT2.	45
Figura 10	Correlación del sTNF con control glucémico en SR y pacientes DT2.	46
Figura 11	Correlación entre el sTNFR1 con control glucémico en SR y pacientes DT2.	47
Figura 12	Niveles de sTNFR2 por género en los SR y los pacientes con DT2.	51
Figura 13	Niveles de sTNF por género en los SR y los pacientes con DT2.	52
Figura 14	Niveles plasmáticos del sTNFR2 con medidas de control glucémico en mujeres y hombres con DT2.	55
Figura 15	Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2.	61

Figura 16	Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2.	63
Figura 17	Comparación de los niveles plasmáticos del sTNF (a) y el sTNFR2 (b) según el riesgo cardiovascular.	103
Figura 18	Riesgo cardiovascular en mujeres sin y con menopausia.	111
Figura 19	Los niveles plasmáticos del sTNFR2 y sTNF en mujeres sin y con menopausia.	113
Figura 20	Correlación del sistema soluble del TNF con las variables inflamatorias y de función endotelial en pacientes con menopausia.	118

Abstract

Introduction: Endothelial dysfunction is an initial event in the development of vascular alterations and the evidence implies TNF and its receptors in the pathophysiology of endothelial dysfunction in type 2 diabetes (T2D) through unclear mechanisms. Therefore, we hypothesize that disordered glycemic control induces the inflammatory process, increasing the levels of soluble TNF (sTNF), its receptors 1 (sTNFR1) and 2 (sTNFR2) and the indicators associated with endothelial function.

Methods: Comparative experimental study that included 283 subjects: 171 subjects at risk of T2D (SR) and 107 T2D patients. The relationship between the TNF system and the glycemic control was evaluated: fasting plasma glucose (GA), HbA1c, insulin, C-peptide and HOMA-Beta; with inflammation: hsCRP, IL-6, MCP-1 and endothelial function: VCAM-1, ICAM-1 and NO.

Results: sTNFR2 and sTNF but not sTNFR1 levels were higher in T2D than non-diabetics ($P < 0.0001$). In T2D, sTNFR2 was associated with HbA1c and C peptide ($R^2 = 0.354$, $b = 0.504$, $P < 0.0001$; $b = 0.167$, $P = 0.049$). Also, T2D patients with disordered glycemic control had increased sTNFR2 levels that correlated with GA, HbA1c, and HOMA-Beta; events not observed in patients with T2D with adequate glycemic control. In T2D patients, sTNFR2 was associated with IL-6, MCP-1, VCAM-1, and ICAM-1. Furthermore, sex-based comparative analyses of T2D patients showed that women compared to men had higher sTNFR2 levels ($P = 0.017$) that were associated with GA ($Rho = 0.631$, $P < 0.0001$), HbA1c ($Rho = 0.652$, $P < 0.0001$), insulin ($Rho = 0.462$, $P < 0.0001$) and HOMA-Beta ($Rho = 0.673$, $P < 0.0001$).

Conclusions: Disordered glycemic control is associated with increased plasma levels of sTNFR2 and sTNF, but not sTNFR1. The levels of sTNFR2 are higher in women than in T2D men., sTNFR2, IL-6 and VCAM-1 are associated with cardiovascular risk in T2D women. Therefore, increased levels of sTNFR2 may be an important biomarker for the pathophysiology of T2D and an early indicator of the presence of cardiovascular damage in T2D women in particular.

Resumen

Introducción: La disfunción endotelial es un evento inicial en el desarrollo de alteraciones vasculares y la evidencia implica TNF y sus receptores en la fisiopatología de la disfunción endotelial en la diabetes tipo 2 (DT2) a través de mecanismos poco claros. Por lo que hipotetizamos que el descontrol glucémico induce el proceso inflamatorio, incrementando los niveles del el TNF soluble (sTNF), sus receptores 1 (sTNFR1) y 2 (sTNFR2) así como los indicadores asociados a función endotelial.

Métodos: Estudio experimental comparativo que incluyó a 283 sujetos: 171 sujetos en riesgo (SR) y 107 pacientes DT2. Se evaluó la relación entre el sistema TNF con el control glucémico: glucosa de ayuno (GA), HbA1c, insulina, péptido C y HOMA-Beta; con inflamación: hsCRP, IL-6, MCP-1 y función endotelial: VCAM-1, ICAM-1 y NO.

Resultados: Los niveles de sTNF y sTNFR2, pero no sTNFR1, fueron más altos en DT2 que en los SR ($P < 0.0001$). En DT2, sTNFR2 se asoció con HbA1c y péptido C ($R^2 = 0.354$, $b = 0.504$, $P < 0.0001$; $b = 0.167$, $P = 0.049$). Los pacientes con DT2 con descontrol glucémico tenían niveles aumentados de sTNFR2 que se asociaron con GA, HbA1c y HOMA-Beta; eventos no observados en pacientes con DT2 con control glucémico adecuado. En los pacientes DT2, el sTNFR2 se asoció con IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1. Los análisis comparativos basados en el género de los pacientes DT2 mostraron que las mujeres en comparación con los hombres tenían niveles más altos de sTNFR2 ($P = 0.017$) que se asociaron con GA ($Rho = 0.631$, $P < 0.0001$), HbA1c ($Rho = 0.652$, $P < 0.0001$), insulina ($Rho = 0.462$, $P < 0.0001$) y HOMA-Beta ($Rho = 0.673$, $P < 0.0001$).

Conclusiones: El descontrol glucémico está asociado con el incremento de los niveles circulantes de sTNFR2 y sTNF, pero no de sTNFR1. Los niveles de sTNFR2 son más altos en mujeres que en hombres DT2. En mujeres DT2, el sTNFR2, IL-6 y VCAM-1 están asociados al riesgo cardiovascular. Por tanto, el aumento de los niveles de sTNFR2 puede ser un biomarcador importante para la fisiopatología de la DT2 y un indicador temprano de la presencia de daño cardiovascular en mujeres DT2.

Índice

Financiamiento	i
Autorización	ii
Oficio de autorización bioética	iii
Agradecimientos	v
Dedicatoria	vi
Lista de abreviaturas	vii
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xiii
Abstract	xv
Resumen	xvi
1. Introducción	1
1.1 Diabetes tipo 2	1
1.1.1 Definición y fisiopatogenia	1
1.1.2 Epidemiología e impacto económico	3
1.1.3 Factores de riesgo	3
1.1.4 Diagnóstico de la DT2	4
1.1.5 Complicaciones de la DT2	5
1.2 El endotelio vascular	6
1.2.1 Características del endotelio	6
1.2.2 Función del endotelio vascular	6
1.3 Disfunción endotelial	8
1.3.1 Definición y generalidades	8
1.3.2 Disfunción endotelial e hiperglicemia	10
1.3.3 Disfunción endotelial e inflamación	11
2. Antecedentes específicos	13
2.1 Sistema TNF	13

2.1.1 Factor de necrosis tumoral	13
2.1.2 Receptores del TNF	15
2.2 Receptor 2 del TNF	16
2.2.1 Características del TNFR2	16
2.2.2 Vía de señalización del TNFR2	17
2.2.3 TNFR2 y desarrollo de enfermedad	19
2.3 TNFR2 y disfunción endotelial vascular	21
3. Justificación	24
4. Hipótesis	25
5. Objetivos	25
5.1 Objetivo general	25
5.2 Objetivos específicos	25
6. Metodología	25
6.1 Diseño de estudio	25
6.2 Muestreo y protocolos experimentales	26
6.2.1 Selección de la muestra	26
6.2.2 Variables clínicas y metabólicas	26
6.2.3 Evaluación del metabolismo glucémico.	27
6.2.4 Pruebas de ELISA evaluadas en la población de estudio	28
6.3 Estrategia de trabajo	29
6.4 Análisis estadístico	31
7. Resultados	32
7.1 Caracterización de la población total de estudio	32
7.1.1 Caracterización clínica, antropométrica y metabólica	32
7.1.2 Análisis del sistema TNF en la población total	34
7.2 Caracterización de los SR y pacientes DT2	37
7.2.1 Caracterización clínica, antropométrica y metabólica	37
7.2.2 Análisis del sistema TNF en SR y pacientes DT2	39
7.2.3 Análisis de regresión lineal múltiple en los pacientes DT2	48

7.3. Sistema TNF en los pacientes DT2 por control glucémico	49
7.4. Análisis del sistema TNF por género en los SR y pacientes DT2	50
7.5 Variables inflamatorias y de función endotelial	56
7.5.1 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en la población total	56
7.5.2 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2	57
7.5.3 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 por control glucémico	59
7.5.4 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 y género	62
8. Discusión	64
9. Conclusiones	69
10. Perspectivas	70
11. Referencias	71
12. Anexos	82
12.1 Carta consentimiento informado	82
12.2 Encuesta para caracterización antropométrica	83
12.3 Encuesta de caracterización clínica	84
12.4 Técnicas de caracterización antropométrica y metabólica.	87
12.5 Técnicas para las variables inflamatorias y de función endotelial.	96
12.6 Caracterizaciones del sistema TNF según el riesgo cardiovascular	102
12.7 Análisis del sistema TNF por diagnóstico de menopausia	110
13. Publicaciones	119
13.1 Resúmenes presentados en congresos	119
13.2 Artículos de divulgación	127
13.3 Artículos científicos indizados	144

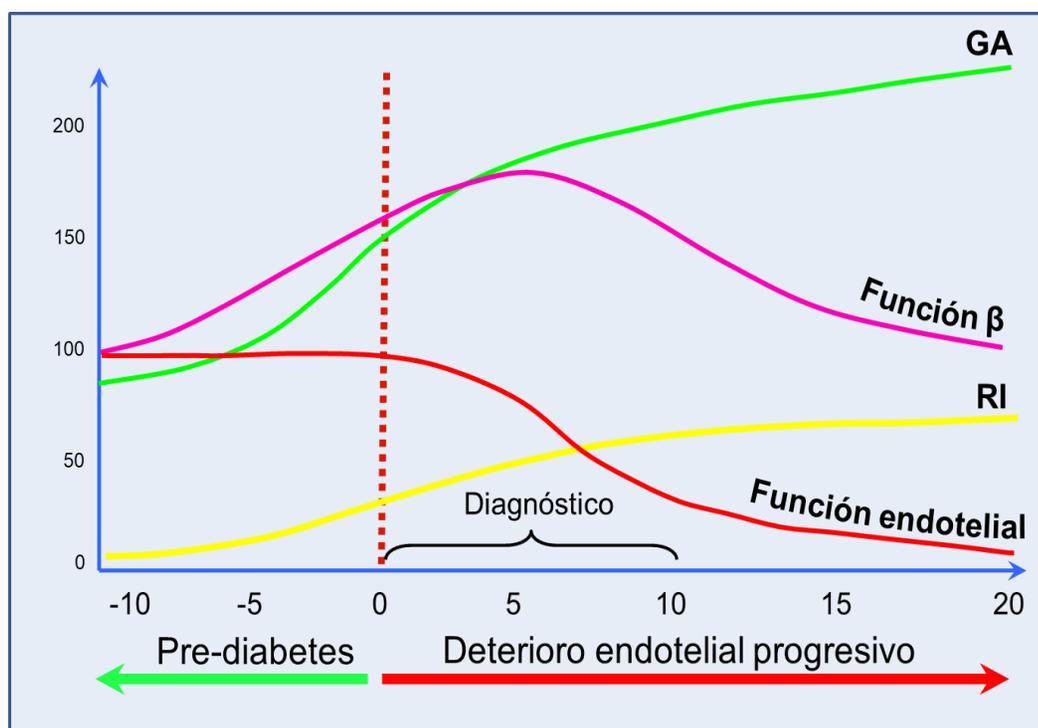
1. Introducción

1.1 Diabetes tipo 2

1.1.1 Definición y fisiopatogenia

La diabetes tipo 2 (**DT2**), una de las formas clínicas de la diabetes, se define como grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por dos anomalías fundamentales: una inadecuada secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas (disfunción β -celular) y la presencia de grados variables de resistencia a la insulina (**RI**), que condicionan la aparición de hiperglucemia posprandial y aún en estado de ayuno (**Figura 1**) (ADA 2021).

Figura 1. Fisiología de la DT2.



La DT2 se caracteriza por una secreción alterada de insulina por parte de las células β pancreáticas y la presencia de grados variables de RI, acompañada de un deterioro endotelial progresivo, que condicionan la aparición de hiperglucemia posprandial (ADA 2021). Además, se ha sugerido que la disfunción endotelial que pudiera estar presente antes del desarrollo de la hiperglucemia y por tanto, antes del diagnóstico de DT2, estando íntimamente relacionado con el desarrollo de las complicaciones vasculares micro y macrovasculares (Leahy 2005).

La patogénesis de la DT2 es aún desconocida, pero se considera que es resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales (Lyssenko y Laakso 2013). Se han identificado varios factores de riesgo para la DT2, que incluyen edad, género, baja actividad física, obesidad, tabaquismo, origen étnico y antecedentes familiares (Lyssenko y Laakso 2013).

La resistencia a la insulina se define como un estado metabólico caracterizado por una reducción de los efectos biológicos para una determinada concentración de insulina, es decir, existe un deterioro de la capacidad de respuesta celular a la insulina cuyas acciones estimuladoras e inhibitoras están alteradas (Wallace y Matthews 2002). El concepto de disfunción β -celular está relacionado con la pérdida de la capacidad secretora de insulina en respuesta a las concentraciones extracelulares de glucosa y surge como una explicación del proceso fisiopatogénico que sufre el paciente DT2, siendo ampliamente aceptado que para que la hiperglucemia exista, el proceso de disfunción debe de estar presente (Kahn 2001).

Se ha observado que un factor de riesgo no modificable muy importante para el desarrollo de DT2 es el antecedente familiar de diabetes (Zhang y cols. 2017). Es importante destacar que el 40% de los familiares en primer grado desarrollan diabetes, a diferencia del 6% de la población en general; además en este tipo de población es común encontrar condiciones metabólicas que favorecen la aparición de la enfermedad en comparación de aquellos sujetos sin tal antecedente (Zhang y cols. 2017).

En general diferentes estudios realizados en animales y humanos han tratado de esclarecer las causas de la disfunción endotelial en el paciente diabético, aunque datos recientes sugieren que dicho proceso pudiera estar presente antes del desarrollo de la hiperglucemia y por lo tanto, antes del diagnóstico de DT2 (Leahy 2005). Diversos mecanismos han sido propuestos para explicar el proceso de disfunción, entre los que destacan la glucotoxicidad, la lipotoxicidad, las alteraciones en la biosíntesis de proinsulina y el agotamiento β -celular (Gerich 2003), sin embargo ninguno ha podido ser directamente identificado como causante de la enfermedad.

1.1.2 Epidemiología e impacto económico

La DT2 es un grave problema de salud, que afecta al 8.5% (más de 463 millones de personas) de la población mundial (OMS 2016). En 2019, se estimó que más de 460 millones de personas tenían diabetes y se estima que esta cifra aumente a 578 millones para el año 2030 y a 700 millones para 2045 (OMS 2016). México ocupa el sexto lugar mundial en número de personas con diabetes, siendo la prevalencia de diabetes en adultos del 10.3%, con mayor incidencia en mujeres (11.4%) que en hombres (9.1%) (Shamah-Levy y cols. 2020). Del total de los sujetos afectados, cerca del 30% desconoce que padece de diabetes, debido en parte, a que más de la mitad de los casos son asintomáticos, lo que significa que en México, más de 4.6 millones de personas tienen diabetes, de las cuales poco más de un millón no han sido diagnosticadas (Shamah-Levy y cols. 2020).

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la DT2 aparece dentro de los primeros motivos de egreso hospitalario, ocupa el primer lugar de morbilidad y desde el 2002 ocupa el segundo lugar en la demanda de consulta externa, el primer lugar en la consulta de especialidades, sexto en incapacidades y es primera causa de defunción hospitalaria (IMSS 2019). Los recursos económicos requeridos para satisfacer la demanda directa en el IMSS están destinados a áreas como consulta-diagnóstico, monitoreo, medicamentos, hospitalización y tratamiento de las complicaciones (IMSS 2019).

1.1.3 Factores de riesgo

Se ha propuesto que el desarrollo de diabetes es el resultado de la suma de factores ambientales y genéticos. El impacto de los factores genéticos en el desarrollo de DT2, se evidencia por la alta prevalencia de DT2 en algunos grupos étnicos, en sujetos con historia familiar de diabetes y en gemelos monocigotos (ADA 2021).

Los factores de riesgo pueden incluir una dieta alta en lípidos, en especial grasas saturadas (más de 30% del aporte calórico/día), elevada ingesta alcohólica, hipogonadismo masculino, niveles elevados de insulina basal, hiperuricemia, microalbuminuria (Palacios y

cols. 2012). La Guía Técnica General Para la Vigilancia, Prevención y Control de la Diabetes Mellitus del IMSS agrupa los factores de riesgo como modificables y no modificables según se muestra en la **Tabla 1** (IMSS 2018).

Tabla 1. Clasificación de los factores de riesgo para el desarrollo de DT2.

No modificables	Modificables
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ascendencia hispana. ▪ Antecedentes de familiares en primer grado con diabetes (padres, hermanos o hijos). ▪ Edad ≥ 45 años. ▪ En mujeres, el antecedente de un hijo macrosómico (peso al nacimiento ≥ 4 Kg.) o de bajo peso (< 2.5 Kg.). ▪ Diabetes gestacional. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sobrepeso u obesidad ($IMC \geq 25$ Kg/m²) ▪ Perímetro de cintura ≥ 90 cm. para hombres y ≥ 80 cm. para mujeres ▪ Índice cintura-cadera ≥ 0.9 para hombres y ≥ 0.8 para mujeres ▪ Presión arterial ($\geq 130/85$ mmHg.) ▪ Dislipidemias (colesterol ≥ 200 mg/dL, triglicéridos ≥ 150 mg/dL y HDL ≤ 35 mg/dL) ▪ Disglucemias (glucosa alterada de ayuno y/o intolerancia a la glucosa). ▪ Otras condiciones clínicas asociadas con RI (acantosis nigricans, síndrome de ovario poliquístico) ▪ Sedentarismo y/o tabaquismo

Tomado de la Guía Técnica General Para la Vigilancia, Prevención y Control de la Diabetes Mellitus del IMSS (IMSS 2018).

1.1.4 Diagnóstico de la DT2

La ADA establece los siguientes criterios para diagnosticar la DT2: síntomas de diabetes más una glucosa plasmática casual ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) o una glucemia plasmática en ayuno de 8 horas ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L) en más de una ocasión o una glucemia mayor de 200 mg/dL en una prueba de tolerancia oral a la glucosa, usando el equivalente a 75 gramos de glucosa anhidra disuelta en agua (ADA 2021). La ADA define

una categoría denominada tolerancia alterada a la glucosa (**TAG**) como un estado metabólico intermedio entre la homeostasis normal de la glucosa y la DT2 y glucemia alterada de ayuno (**GAA**), ambos estados constituyen situaciones de riesgo para la enfermedad. Los puntos de corte para establecer estos diagnósticos son: glucemia a las dos horas poscarga oral de glucosa ≥ 140 mg/dL (7.8 mmol/L) pero < 199 mg/dL (11.1 mmol/L) en plasma venoso para establecer TAG y glucosa plasmática de ayuno > 100 mg/dL (5.6 mmol/L) pero < 125 mg/dL (6.9 mmol/dL) para GAA (ADA 2021).

1.1.5 Complicaciones de la DT2

Las complicaciones de la DT2 están relacionadas con el deterioro del sistema vascular que, cuando afecta a los pequeños vasos, se denominan complicaciones microvasculares y las complicaciones macrovasculares que son las que afectan a las arterias en general. Las complicaciones microvasculares incluyen la retinopatía, la nefropatía e insuficiencia renal crónica y la neuropatía. Las complicaciones macrovasculares incluyen alteraciones vasculares, como la enfermedad cardiovascular (**EVC**) enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad cerebrovascular y vascular periférica, cardiopatía e hipertensión arterial, lo que a su vez condiciona pie diabético, angiopatía diabética, neuropatía autonómica en el sistemas digestivo, genitourinario y cardiovascular (Oviedo-Mota y cols. 2003).

El desarrollo y gravedad de las complicaciones macro y microvasculares de la DT2 se asocian con el grado de hiperglucemia, la presencia de alteraciones metabólicas, el tiempo de evolución de la enfermedad, factores de riesgo y antecedente genético (Zheng y cols. 2018). Se ha demostrado que cifras menores de 7% de hemoglobina glucosilada (HbA1c), la prevalencia de las complicaciones microvasculares y neuropáticas disminuye considerablemente, mientras que cuando las cifras son superiores, las complicaciones aumentan de forma exponencial (UKPDS 1998). Así, por cada 1% de HbA1c que corresponde a un cambio de 35 mg/dL en los niveles medios de glucosa sanguínea, que se consiga descender, disminuye la frecuencia de las complicaciones en un 30% (UKPDS 1998, ADA 2021).

1.2 El endotelio vascular

1.2.1 Características del endotelio

El endotelio es una delgada capa monocelular ($< 0.5 \mu\text{m}$ de ancho), compuesta por aproximadamente un trillón de células endoteliales, que cubren toda la superficie interna de los vasos sanguíneos, separando la sangre circulante del tejido y funcionando como una barrera altamente selectiva y como un órgano altamente metabólico, involucrado en el catabolismo, metabolismo y síntesis de varios agentes vasoactivos (Carvajal 2017). El endotelio es un órgano vital endocrino y paracrino que detecta cambios en distintos factores hemodinámicos (presión y fuerzas de rozamiento) y hormonales (París 2006). El endotelio protege la pared arterial frente al desarrollo de lesiones y ayuda a mantener la homeostasis vascular, modulando los estímulos recibidos y adaptando el estado funcional de las células endoteliales a través de la síntesis y producción de proteínas de forma altamente regulable (Carvajal 2017).

1.2.2 Función del endotelio vascular

Es importante destacar que el entorno local provoca fenotipos heterogéneos de células endoteliales determinados por las necesidades locales, lo que asegura una adecuada homeostasis en los diferentes órganos y explica las diversas respuestas patológicas a una integridad vascular alterada (Godo y Shimokawa 2017). La interacción entre el flujo sanguíneo y el endotelio no solo involucra la interacción entre los constituyentes y las células sanguíneas con el endotelio, sino que también sirve como sensor, capacitando al endotelio para responder por vasoregulación aguda y por inducción de la adaptación crónica de los vasos sanguíneos (Godo y Shimokawa 2017).

En condiciones específicas, el endotelio es capaz de inducir el potente vasoconstrictor endotelina-1 (**ET-1**) (Bakker y cols. 2008). La insulina actúa como un vasoregulator al ser capaz de inducir la liberación de óxido nítrico (**NO**) y ET-1 (Cardillo y cols. 1999). Además de producir un amplio rango de factores que regulan diversas funciones vasculares (que incluyen la regulación del crecimiento vascular, la adhesión leucocitaria y plaquetaria), el

endotelio presenta tres funciones generales principales: 1) regulación del tono vascular, 2) balance del flujo sanguíneo y trombosis y 3) control del proceso inflamatorio (**Tabla 2**) (Widlansky y cols. 2003).

Tabla 2. Funciones y factores involucrados en la función endotelial.

Mantenimiento del tono vascular

- Óxido nítrico (NO)
- Kininas
- Prostaglandinas, prostaciclina-2 (PGI₂) y tromboxano A₂ (TxA₂)
- Factor hiperpolarizante endotelial (EHF)
- Endotelina-1(ET-1) y angiotensina-II (AG-II)
- Péptido natriurético C (NPC)

Balance del flujo sanguíneo y trombosis

- NO
- Activador tisular del plasminogeno (tPA)
- Heparina
- Trombomodulina y prostanglandinas
- Activador del inhibidor del plasminogeno (PAI-1)
- Factor tisular (FT)
- Factor de von Willebrand (VWF)

Control del proceso inflamatorio vascular

- Factor quimiotáctico del monocito (MCP-1)
- Interleucina (IL)-1, 6 y 18
- Moléculas pro-inflamatorias: factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón
- Selectina E (molécula de adhesión endotelial 1 o ELAM-1) y selectina P (proteína de membrana de gránulos 140 o PADGEM)
- Moléculas de adhesión: molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM)-1, 2 y 3

Tomado de Widlansky y cols. 2003.

La vasoregulación aguda se lleva a cabo a través de la producción de óxido nítrico (**NO**), el factor de hiperpolarización derivado del endotelio (**EDHF**), prostaciclina (**PGI₂**) y prostaglandina E₂ (**PGE₂**), de las cuales la contribución relativa varía entre los diferentes tipos de vasos sanguíneos (Bakker y cols. 2008). El NO es el factor vasodilatador endógeno más importante. El NO se origina por la acción de la enzima endotelial óxido nítrico sintetasa (**eNOS**) sobre el aminoácido L-arginina. En el músculo liso vascular, el NO activa la guanil ciclasa, lo que ocasiona el aumento de la guanosín monofosfato cíclico (**GMPC**). El GMPC, en cambio, activa la proteína cinasa dependiente de la cGMP (**PRKG**), que disminuye el calcio citosólico, lo que conduce a la relajación del músculo liso y una disminución del tono vascular (París 2006).

La activación inflamatoria del endotelio puede inducir intermediarios de especies reactivas de oxígeno (**EROs**), que pueden ser generadas por el proceso inflamatorio en sí mismo y por condiciones metabólicas alteradas. Finalmente, el endotelio es el mayor vector en angiogénesis (formación de nuevos vasos), que no solo es importante en el desarrollo, crecimiento y reparación tisular, pero también en la perfusión capilar del músculo (Bakker y cols. 2009)

1.3 Disfunción endotelial

1.3.1 Definición y generalidades

La disfunción endotelial, un importante factor de riesgo cardiovascular, se ha estudiado ampliamente en animales y seres humanos como un factor crítico e iniciador en la génesis de la enfermedad vascular. La disfunción endotelial se refiere a una condición en la cual el endotelio pierde sus propiedades fisiológicas y cambia su estado vasoconstrictor, pro-trombótico y pro-inflamatorio, lo que implica modificaciones en la síntesis, liberación, difusión y degradación de los factores que se generan en el endotelio (**Tabla 3**) (Yang y cols. 2010). El deterioro del endotelio es un complejo evento fisiopatológico que incluye tanto el aumento de la activación de las células endoteliales como el inicio de disfunción endotelial. La activación endotelial se define como un estado proinflamatorio y procoagulante de las

células endoteliales, caracterizado por la expresión de moléculas de adhesión a la superficie celular necesarias para el reclutamiento y la unión de células inflamatorias (Bakker y cols. 2009).

La disfunción endotelial es considerada como un evento inicial en el desarrollo de las alteraciones vasculares en la enfermedad isquémica, enfermedad vascular periférica y enfermedad cerebrovascular. Así mismo, la disfunción endotelial ha recibido creciente atención como un potente factor contribuyente en la patogénesis de la enfermedad vascular en diabetes y en procesos relacionados, como son la dislipidemia, la obesidad, la hipertensión, la aterosclerosis, la falla cardíaca, el síndrome coronario, la vasculitis y la trombosis (Bakker y cols. 2009).

Tabla 3. Asociación de la disfunción endotelial con las complicaciones vasculares.

Cambios estructurales en la barrera endotelial y matriz
<ul style="list-style-type: none">▪ Aumento del grosor de la membrana basal▪ Disminución del glicocáliz▪ Formación de productos avanzados de glicación y entrecruzamientos inadecuados de la matriz celular
Microalbuminuria
Respuesta vasodilatadora reducida (hipertensión)
<ul style="list-style-type: none">▪ Disminución en la producción de óxido nítrico▪ Incremento en la síntesis de endotelina-1
Incremento de la activación inflamatoria
<ul style="list-style-type: none">▪ Expresión incrementada de las moléculas de adhesión celular y adhesión leucocitaria▪ Producción incrementada de la respuesta de los mediadores circulatorios, incluyendo a la PCR.
Homeostasis alterada
<ul style="list-style-type: none">▪ Niveles elevados del factor de von Willebrand<ul style="list-style-type: none">▪ Trombomodulina reducida y factor activador del plasminógeno-1(PAI-1) incrementado

Tomado de Bakker y cols. 2009.

Las modificaciones inducidas por la disfunción endotelial comprometen la función como barrera y disminuyen la sensibilidad vascular a los vasodilatadores, incrementan el atrapamiento de lipoproteínas en la pared arterial y favorecen el proceso aterogénico (Hadi y Suwaidi 2007). La disfunción endotelial induce modificaciones en la proliferación y en la sensibilidad a la apoptosis, en la activación de la actividad inflamatoria e incrementan los productos endoteliales. Diversos factores independientes están implicados en el daño endotelial, pero se han propuesto como factores causales primarios a la hiperglicemia, el estrés oxidativo e inflamación. (Schalkwijk y Stehouwer 2005).

1.3.2 Disfunción endotelial e hiperglicemia

La hiperglicemia es el principal e independiente factor de riesgo para el desarrollo de disfunción endotelial (Sitia y cols. 2010). El incremento crónico de los niveles de glucosa, están fuertemente relacionados con el desarrollo de alteraciones vasculares, ya que la hiperglicemia daña irreversiblemente el endotelio al inducir cambios cuanti y cualitativos a nivel de membrana por un flujo aumentado de la glucosa hacia el interior de la célula, con incremento de la activación de rutas metabólicas que modifican la permeabilidad celular y estimulan la síntesis de factores de crecimiento y vasoactivos (Yang y cols. 2010), comprometiendo numerosas funciones como la vasodilatación, angiogénesis, activación inflamatoria e incremento de los niveles plasmáticos de los productos endoteliales, todos los cuales están asociados con el desarrollo de las complicaciones de la DT2, que son agravadas por hiperglicemia pero que no son primariamente dependientes del incremento de glucosa (Bakker y cols. 2008).

La hiperglicemia crónica está relacionada con el desacoplamiento mitocondrial y la inhibición enzimática de la glucólisis, causando la acumulación de productos intermediarios, lo cual activa por lo menos cuatro vías bioquímicas que se sabe, dañan a las células endoteliales: 1) activación de la proteína cinasa C (**PKC**) lo que causa alteración del pool de nicotiamida-adenina-dinucleótido fosfato (**NADPH**) e inhibición de la producción de NO; 2) glicosilación avanzada no enzimática que causa cambios en las características antigénicas de

proteínas y DNA; 3) activación de la vía de la hexosamina y 4) disminución de la relación NADPH/NADP⁺ por activación de la vía del sorbitol (Fatehi-Hassanabad y cols. 2010). La presencia de hiperglicemia también está relacionada con la desregulación en la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno conduciendo a estrés oxidativo, alteraciones en el sistema antioxidante y estimulación de la actividad inflamatoria endógena (Förstermann 2008). Es de particular interés que las vías anteriormente mencionadas son de naturaleza reversible cuando la hiperglicemia es controlada, sin embargo el daño vascular generado no (Bakker y cols. 2009).

1.3.3 Disfunción endotelial e inflamación

El proceso inflamatorio relacionado con disfunción endotelial corresponde a un estado crónico subclínico denominado inflamación crónica de baja intensidad, estado caracterizado por un incremento moderado de los niveles circulantes de diversas citocinas pro y anti-inflamatorias, de los antagonistas naturales de las citocinas y de proteínas de fase aguda (Emanuela y cols. 2012).

El concepto de inflamación crónica de baja intensidad, se ha desarrollado junto al descubrimiento de que diversos tejidos (adicionales a los implicados en el sistema inmune) son capaces de producir y liberar marcadores inflamatorios en los estados pre-diabéticos y obesogénicos, siendo los más destacados en cuanto a producción de citocinas, el propio tejido vascular, el tejido adiposo, el tejido muscular esquelético y el tejido hepático (Kershaw y Flier 2004).

Entre los factores inflamatorios producidos, podemos mencionar a factores relacionados con proteínas de fase aguda y citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF, también conocido como TNF α), interleucina (IL)-1, 8 y 18, proteína C reactiva (PCR), proteína quimiotáctica del monocito (MCP-1), eNOS, factor de crecimiento transformante (TGF)- β , leptina, angiotensinógeno, resistina y proteínas pro-coagulantes

como el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (**PAI-1**), factor tisular (**TF**) y el factor VII (Halberg y cols. 2008).

Las citocinas pueden incrementar la síntesis de factores activadores de plaquetas, estimular la lipólisis, incrementar la expresión de moléculas de adhesión y suprarregular la síntesis y expresión de pro-coagulantes en la célula endotelial. El papel de las citocinas IL-1, IL-6 y TNF es esencial en la respuesta inflamatoria vascular, por lo que han sido extensamente estudiadas como citocinas-pro-inflamatorias, siendo el TNF un mediador clave en los procesos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de daño endotelial, la EVC, en la aterosclerosis y en la DT2 (Halberg y cols. 2008).

El incremento en la expresión de TNF induce la producción de EROs y estimula la cascada intracelular de citocinas a través de eventos transcripcionales donde el factor de transcripción nuclear kappa B (**NF-kB**) regula la expresión inducible de genes que codifican al propio TNF, IL-6, MCP-1 y moléculas de adhesión (Zhang y cols. 2009). El TNF se ha relacionado con el estrés oxidativo, por regulación de la actividad de la eNOS, afectando directamente la producción inducible de NO, aunque otros estudios han propuesto que en células endoteliales el TNF disminuye significativamente la expresión de la eNOS (Seidel y cols. 2006). Por otra parte, se ha demostrado que el TNF reduce marcadamente los niveles de mRNA de la NOS constitutiva en células endoteliales de la vena umbilical humana (**HUVEC**) de una forma dosis/tiempo dependiente, sin cambios en la velocidad de transcripción del gen (Yoshizumi y cols. 1993).

Finalmente, Picchi y col. demostraron que la disfunción endotelial puede ser resultado de los efectos del TNF, por inducción de sistemas enzimáticos como la xantina oxidasa y NADPH oxidasa, con la consecuente producción del anión superóxido, que es un radical altamente reactivo (tiempo de vida media de 2-4 μ s) que forma hidroperóxidos capaces de oxidar aminoácidos específicos (histidina, metionina y triptófano) y de provocar la peroxidación lipídica en la membrana celular (Picchi y cols. 2006).

2. Antecedentes específicos

2.1 Sistema TNF

2.1.1 Factor de necrosis tumoral

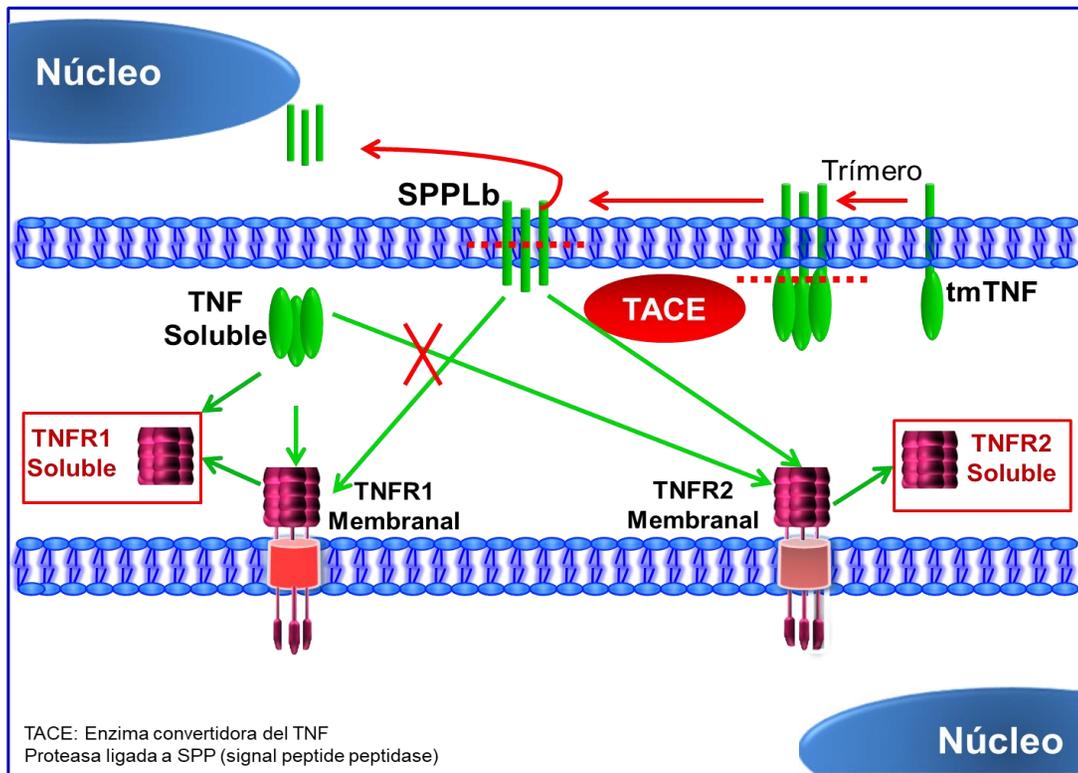
El TNF (TNFSF1A) es una citocina que pertenece a la superfamilia del TNF, con dominios extracelulares conservados ricos en cisteína. El gen humano del TNF (cromosoma 6p21.3) se expresa como una proteína transmembrana tipo 2, de 233 aminoácidos (26 kDa), producida principalmente por monocitos, macrófagos activados, linfocitos, natural killer, tejido adiposo, músculo liso, células endoteliales y algunas células tumorales y otros tipos celulares nucleados como hepatocitos y células musculares (Horiuchi y cols. 2010).

El TNF ejerce diferentes efectos biológicos que incluyen a la apoptosis, la citotoxicidad de células tumorales, la activación y diferenciación de monocitos, la actividad parasitocida y bactericida de los macrófagos por inducción de las vías del superóxido y NO. Por otro lado, el TNF tiene efectos fisiopatológicos al ser secretado en grandes cantidades en sepsis, infecciones crónicas, inflamación crónica y cáncer (Alvarado y Roitz 2012).

El TNF es liberado de la superficie celular por la acción de la enzima convertidora del TNF (**TACE**) entre los residuos de alanina y valina generando una proteína soluble de 177 aminoácidos (17 kDa) (**Figura 2**) (Black y cols. 1997). Los niveles de TNF en vivo son controlados por el inhibidor tisular de la metaloproteínasa de matriz 3 (**TIMP3**) mediante su unión a la matriz extracelular e inhibición de TACE por la presencia de la secuencia prolina-fenilamina-glicina (**PFG**) (Mohammed y cols. 2004). La forma activa del TNF corresponde a un homotrímero soluble (**sTNF**) formado por tres monómeros idénticos de 17 kDa, la forma membranal también es un homotrímero formado por tres monómeros de 26 kDa que contiene tres histidinas en posición 15, 73, y 78. La modificación en el residuo 15 da lugar a la disminución o pérdida de su actividad, lo que indica que este aminoácido está en el sitio de unión al receptor o en una posición muy cercana (Horiuchi y cols. 2010). EL sTNF actúa en sitios remotos a la zona de producción, mientras que la forma transmembranal actúa como un ligando por unión a su receptor a la vez que se comporta como un receptor que transmite

señalización reversa (de afuera hacia adentro) en la membrana de células productoras de TNF (Eissner y cols. 2004).

Figura 2. Biología del TNF y sus receptores TNFR1 y TNFR2.



Modificado de Horiuchi y cols. 2010. El TNF es una proteína transmembranal que se expresa como un homotrímero. Después del procesamiento por TACE, se genera la forma soluble del TNF. Tanto la forma soluble del TNF como la forma membranal tienen la capacidad de unirse a TNFR1 o TNFR2. El TNF transmembranal después de la escisión con TACE es procesado adicionalmente por SPPL2b y el dominio intracelular se transloca al núcleo mediante la producción de otras citocinas y del mismo TNF.

A nivel endotelial, el TNF es uno de los mediadores clave que se expresa en una amplia variedad de condiciones inflamatorias e inicia la expresión de un amplio espectro de citocinas que incluyen a varias interleucinas e interferones y aumenta la expresión de moléculas de adhesión endoteliales, sugiriéndose que esta citocina es capaz de producir el incremento desregulado de la activación de las células endoteliales, lo que podría conducir a procesos

alterados de diferenciación, proliferación, migración transendotelial y al aumento de la adhesión leucocitaria, daño vascular y muerte celular, promoviendo procesos como trombosis, resistencia a la insulina, diabetes y aterosclerosis (Ashkenazi 2002).

2.1.2 Receptores del TNF

El TNF es una citocina prototipo, que se sabe interactúa con dos receptores: el receptor-1 de TNF (**TNFR1**, p55, TNSF31A o CD120a) y el receptor-2 de TNF (**TNFR2**, p75, TNSF1B o CD120b). Los residuos Arg32, Leu-36, Ser-86 y Ala-84 de la estructura cuaternaria del TNF resultan ser el sitio de interacción del TNF con sus receptores. El TNFR1 es constitutivamente expresado en un amplio espectro de tipos celulares, mientras el TNFR2 se expresa principalmente en células endoteliales, del sistema inmune y neuronas de forma tardía e induciblemente controlada por el tipo de estímulo extracelular a nivel transcripcional y post-transcripcional (Vinay y Kwon 2009) .

Ambos receptores pertenecen a la superfamilia de receptores del TNF y son glucoproteínas transmembranales con una homología del 30% en su región extracelular y con 4 dominios ricos en cisteína en su región N- terminal que unen TNF con alta afinidad. Estos receptores no muestran secuencias homólogas en su dominio intracelular, que también carece de actividad enzimática, pero que activa diferentes vías de transducción de señales por reclutamiento de proteínas citosólicas a través de la interacción específica proteína-proteína de los dominios (Locksley y cols. 2001). Los dos receptores difieren significativamente en su afinidad por la unión a su ligando y en sus rutas de señalización intracelular. Experimentos de pulso y captura demuestran que la cinética por la que el TNF se une y libera de sus receptores, difiere significativamente. El TNF se une a ambos receptores con una rápida cinética de asociación (1.1 y $1.5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectivamente). Sin embargo, se ha sugerido que la unión de TNF a TNFR1 es casi irreversible (cinética de disociación kd de $\text{TNF/TNFR1} = 1.9 \times 10^{-11} \text{ M}$) mientras que la unión de TNF a TNFR2 resulta ser menos estable (kd $\text{TNF/TNFR2} = 4.2 \times 10^{-11} \text{ M}$) (Grell y cols. 1995).

Los receptores de TNF presentan diferentes funciones básicas; *in vivo*, cuando las concentraciones de TNF son bajas, el TNFR2 puede servir como un mecanismo de pase del TNF al TNFR1 (Dinarello 2002). Esta teoría propone que la respuesta inflamatoria principal del TNF se lleva a cabo a través de la señalización de TNFR2, en lugar de TNFR1. Mientras que el TNF membranal sea el ligando principal del TNFR1 (Grell y cols. 1995). Se ha reportado que los dos receptores del TNF se pueden encontrar de forma soluble (**sTNFR1** y **sTNFR2**) debido al corte enzimático de la región extracelular de ambos receptores (**Figura 2**). Las formas solubles mantienen la capacidad de unir TNF y pueden actuar como inhibidores naturales de la actividad de la citocina. Las formas solubles de ambos receptores se eliminan por el riñón, siendo excretados en la orina inmunológicamente intactos (Van Zee y cols. 1992).

El incremento en las concentraciones plasmáticas y su capacidad de unir a su ligando ha llevado a la hipótesis de que sTNFR1 y sTNFR2 pueden servir como péptidos transportadores que estabilizan al TNF, formando una especie de “reservorio de lenta liberación” e impidiendo la desnaturalización espontánea de la citocina, favoreciendo así su acción biológica y modulando el proceso agonismo/antagonismo dependiendo de las concentraciones relativas del receptor (Aderka y cols. 1992).

2.2 Receptor 2 del TNF

2.2.1 Características del TNFR2

El TNFR2 humano es una proteína de membrana de tipo I (extremo N-terminal en la región extracelular y el C-terminal en la región intracelular) de 461 aminoácidos y un peso molecular de aproximadamente 80 kDa con un péptido señal de 22 aminoácidos en el extremo N-terminal y un dominio extracelular de 235 aminoácidos. El TNFR2 está compuesto por 4 dominios ricos en cisteína de 40 aminoácidos cada uno, una región yuxtamembrana de 57 aminoácidos y un dominio transmembrana sencillo formado por 30 aminoácidos y un dominio citoplasmático de 174 aminoácidos (**Figura 3**) (Santee y Owen-Schaub 1996). El TNFR2 tiene un único dominio citoplasmático con una secuencia primaria

de aminoácidos diferentes comparada a la de TNFR1, el cual podría explicar que los dos receptores inicien distintas vías de transducción por interacción con diferentes proteínas de señalización (Baud y Karin 2001).

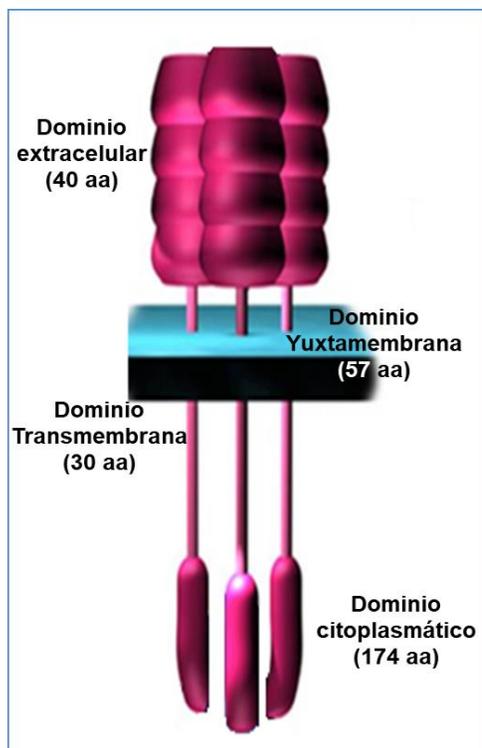
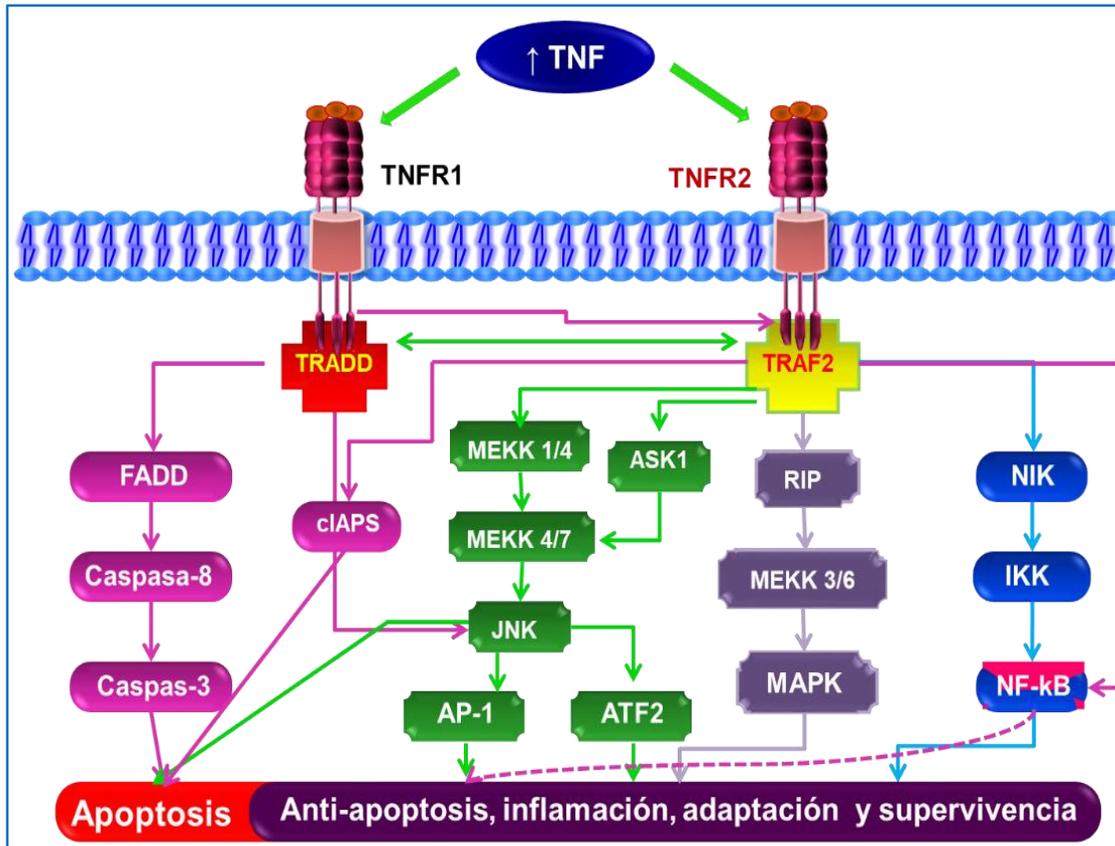


Figura 3. Estructura del TNFR2. El TNFR2 está compuesto por un dominio extracelular, una región yuxtamembrana, un dominio transmembrana sencillo y un dominio citoplasmático. El dominio citoplasmático del TNFR2 permite la asociación del factor TRAF2, a diferencia del TNFR1 que favorece la asociación de los dominios de muerte TRADD y FADD.

2.2.2 Vía de señalización del TNFR2

La principal diferencia entre TNFR1 y TNFR2 es su transducción de señales (**Figura 4**). Se ha observado que la señalización de estos dos receptores puede converger en la activación de factores de transcripción como NF- κ B y en la activación de caspasas, sin embargo, los procesos implicados aún no han sido esclarecidos. Lo que se ha reportado es que la señalización del TNFR1 activa dos vías que involucran a proteínas adaptadoras denominadas dominio de muerte asociado al receptor del TNF (**TRADD**) y dominio de muerte asociado a Fas (**FADD**) que están relacionadas con efectos deletéreos inotrópicos negativos a corto plazo e induciendo a largo plazo la muerte celular apoptótica (Wu y Zhou 2010).

Figura 4. Señalización estimulada por TNF río abajo.



Modificado de Wu y cols. 2010. El TNF puede activar diferentes vías para inducir apoptosis, supervivencia celular o inflamación. El TNF puede inducir la apoptosis al unir caspasa-8 a FADD y promover la inflamación y la supervivencia, que está por TRAF2 a través de la cascada de cinasa dependiente de JNK, la cascada de cinasa MEKK y la activación de NF-κB por RIP.

El TNFR2 carece de actividad catalítica intrínseca por lo que toda su señalización depende del reclutamiento de proteínas adaptadoras, de esta forma la unión del ligando propicia la interacción del TNFR2 con una proteína de gran afinidad denominada factor asociado al receptor de TNF (**TRAF2**) a través del dominio SKEE, comprendido entre los aminoácidos 402-405 de la región intracelular del receptor y esta asociación puede activar directamente al NF-κB o mediar una señalización indirecta activando a la MAP3K y el reclutamiento del complejo cinasa IκB (**IKK**) permitiendo que la proteína cinasa de serina/treonina asociada a receptor (**RIP**) se active (Wu y Zhou 2010). La activación de RIP

activa a su vez a la cinasa específica de IKK que catalizan la fosforilación de I κ B para su degradación, liberando al NF- κ B que se transloca hacia el núcleo. La activación de la transcripción del NF- κ B, regula la expresión de genes involucrados en supervivencia, proliferación y factores antiapoptóticos así como de inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial (Gao y cols. 2007).

En la segunda vía el TNFR2 activa la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (**MAPK o MAPK/ERK**) e inicia una respuesta moderada de p38-MAPK y es responsable de la activación de ERKs. La tercera vía corresponde a la activación de cinasa c-Jun N-terminal (**JNK**) que está involucrada en crecimiento, diferenciación y proliferación celular, aunque en general se sabe que es pro-apoptótica. JNK se activa por la fosforilación secuencial de proteínas a través de MAPK y puede ser inactivada por la acción de fosfatasas específicas (tirosina, serina/treonina, y la fosfatasa dual específica). Una vez activada, JNK fosforila y activa otros efectores, incluidos los factores de transcripción, c-Jun, factor de transcripción activador 2 (**ATF2**) y proteína activadora 1 (**AP-1**) (Wu y Zhou 2010).

Es interesante el hecho de que el TNF es mejor activador de TNFR1 que TNFR2. Sin embargo, el TNFR2 una vez activado, tiene la capacidad de activar tanto la vía de supervivencia a través de NF- κ B, AP-1 y ATF2, así como la vía pro-apoptótica de forma similar al TNFR1, lo anterior se explica, por la asociación de TRAF2 en el dominio citoplasmático del TNFR2 y a que TRAF2 presenta mayor afinidad por TRADD que por cualquiera de los dos receptores del TNF. Además de que la expresión basal del TNFR2 es menor a la de TNFR1, viéndose inducida en algunos tipos celulares en respuesta a daño (Baud y Karin 2001).

2.2.3 TNFR2 y desarrollo de enfermedad

Las funciones fisiológicas y patológicas de los receptores de TNF han sido investigadas usando ratones modificados genéticamente. El estudio en ratones con deficiencia de TNFR1 o TNFR2 sugiere que los dos receptores pueden tener funciones fisiológicas comunes, así

como distintos papeles patogénicos (Carpentier y cols. 2004). Cabe destacar que los niveles de sTNF son clásicamente considerados como un indicador de la activación del proceso inflamatorio, sin embargo, actualmente se sabe que los niveles circulantes de esta citocina no son lo suficientemente informativos, lo anterior, quizás debido a las variaciones en las mediciones de los niveles circulantes o que en general se encuentra a muy bajas concentraciones (en el rango de picogramos/mL), de tal modo que al ser los niveles de los receptores mucho más estables (vida media ~4 horas), permaneciendo elevados por periodos más largos, resultando ser marcadores más valiosos para monitorear la activación del sistema TNF (Speeckaert y cols. 2012, Sheng y cols. 2018).

El papel específico del TNFR2 en el desarrollo de enfermedad ha sido poco caracterizado, la gran mayoría de la información disponible, se refiere a la cuantificación de los niveles circulantes del receptor soluble en diversas patologías, mostrando una clara asociación entre el sTNFR2 con el desarrollo de alteraciones metabólicas asociadas a diabetes (Aderka y cols. 1992). Se ha demostrado que tanto las concentraciones plasmáticas de sTNFR1 como sTNFR2 están elevadas en obesidad y subsecuentes trabajos reportaron que las concentraciones séricas del sTNFR2 pueden ser un indicador de la activación del sistema TNF/TNFR2 en estados fisiológicos como dislipidemia (Hauner y cols. 1998) y RI (Fernández-Real y cols. 1999) además de estar implicados en el desarrollo de nefropatía diabética (Vendrell y cols. 2005) y en general en las complicaciones vasculares de la DT2 (Safranow y cols. 2009).

Actualmente existe una limitada información con respecto a los efectos de la hiperglicemia sobre el TNFR2 en DT2. Sin embargo, se han observado alteraciones metabólicas en células mononucleares de pacientes diabéticos con niveles plasmáticos de glucosa por arriba de 8.0 mM, entre las que destacan las modificaciones en la actividad de la proteína-quinasa (PKC) (Ceolotto y cols. 1999), estrés oxidativo, incremento de la respuesta a interferón gamma y expresión incrementada del receptor TNFR2 (Schnabel y cols. 2013). En el mismo sentido, se ha demostrado un incremento en la concentración del sTNFR2 en sujetos obesos intolerantes a la glucosa (Strackowski y cols. 2006) y en sujetos no diabéticos familiares de pacientes DT2 normotolerantes a la glucosa (Dzienis-Strackowska y cols.

2003), lo que sugiere que el sTNFR2 puede estar involucrado en la fisiopatogenia de la intolerancia a la glucosa e incluso en la diabetes y sus complicaciones.

La respuesta inflamatoria del TNF mediada por TNFR2 en las células endoteliales está involucrada en un amplio rango de desórdenes cardiovasculares, incluyendo aterosclerosis, enfermedad arterial coronaria y falla cardiaca congestiva (Friedl y cols. 2002). Datos convergentes de diversos estudios, han suministrado evidencia de que los marcadores inflamatorios están asociados con los factores de riesgo convencionales de enfermedad aterosclerótica, así como con eventos cardio y cerebrovasculares (Ridker y cols. 2000).

El TNF ha sido asociado con un elevado riesgo de recurrencia de infarto al miocardio y muerte después de un primer infarto miocárdico (Ridker y cols. 2000) y algunos datos disponibles indican una marcada asociación de los niveles de TNFR1 y TNFR2 con aterosclerosis, por lo que algunos investigadores han sugerido que los niveles de los receptores son mejores marcadores de desarrollo de aterosclerosis que el TNF (Blann y McCollum 1998). Al analizar 11 biomarcadores relacionados a inflamación y estrés oxidativo (PCR, fibrinógeno, IL-6, VCAM-1, lipoproteína asociada a la fosfolipasa-A2, MCP-1, mieloperoxidasa, ligando del CD401, P-selectina y TNFR2) se llegó a la conclusión de que el TNFR2 puede considerarse como un biomarcador de riesgo y de mortalidad asociada a eventos cardiovasculares (Schnabel y cols. 2013). Adicionalmente los receptores de TNF están implicados en la disfunción miocárdica y en la apoptosis del miocito (Meldrum 1998). Se ha visto que la ablación del TNFR1 mejora la función miocárdica y la supervivencia del ratón después de un infarto al miocardio (Higuchi y cols. 2004), mientras que la ablación del TNFR2 ha sido asociada con incremento de la falla cardiaca y reducción de la supervivencia después de un infarto (Monden y cols. 2007).

2.3 TNFR2 y disfunción endotelial vascular

El papel del TNFR2 en la señalización de TNF en las células endoteliales permanece controversial, la postura clásica propone que el TNFR1 primariamente media la inflamación y la apoptosis, mientras que el TNFR2 promueve la activación celular, migración y

proliferación (Luo y cols. 2010). Las células endoteliales sometidas a altas concentraciones de glucosa, responden liberando mediadores inflamatorios y se ha encontrado que la expresión de las citocinas pro-inflamatorias como IL-6 y TNF puede ser regulada por glucosa (Sampson y cols. 2003). Estudios en ratas diabéticas Zucker han demostrado que la sobrerregulación de TNF y sus receptores contribuye a la disfunción endotelial (Gao y cols. 2010). El TNFR2 es altamente suprarregulado en el endotelio vascular en respuesta a la isquemia y que la delección de TNFR2 en ratón induce ateriogénesis (crecimiento de vasos existentes) y angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos), lo que sugiere que la señalización de TNFR2 podría tener un papel benéfico en el sistema cardiovascular (Luo y cols. 2010).

La respuesta pro-inflamatoria a largo plazo del TNF se lleva a cabo a través de la expresión de genes de respuesta inducida por TNF, los cuales regulan funciones endoteliales, como la adhesión leucocitaria (vía expresión de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y selectinas), expresión de quimosinas, activación y migración leucocitaria y coagulación por la expresión de factores tisulares y PAI-1 (Madge y Pober 2001). El reclutamiento y migración transendotelial de las células inflamatorias circulatorias es controlada por la expresión de moléculas de adhesión de superficie celular endotelial estimuladas por TNF (respuesta clave en la iniciación de la fase temprana aterosclerótica) (Price y Loscalzo 1999).

El ICAM-1 y la VCAM-1 pueden ser estimuladas por citocinas (Zhou y cols. 2007). En células HUVEC, los niveles de la proteína ICAM-1 y VCAM-1 son estimuladas con el tratamiento de TNF, así mismo, los niveles de ICAM-1 se incrementan después de 4 horas de la estimulación con TNF de una forma dosis dependiente de TNF, alcanzando el pico máximo a las 12 horas, afectando los niveles de TNFR1, pero no de TNFR2 (Zhou y cols. 2007). Se ha reportado que TNFR2 no induce las formas membranales de ICAM-1 ni VCAM-1, pero interesantemente, estimula el incremento en paralelo de la molécula de adhesión intercelular soluble (**sICAM-1**), que es considerada un marcador de disfunción endotelial con un papel crítico en muchos procesos inflamatorios y que está emergiendo como un predictor independiente de episodios cardiovasculares (Strackowski y cols. 2002).

Es importante destacar que estudios recientes indican que el TNFR2, además de las funciones clásicas atribuibles, promueve la actividad metabólica, con un potencial efecto protector. Sin embargo, el papel del TNFR2 ha sido dramáticamente subestimado comparado con el TNFR1, lo anterior quizás se debe a la dificultad en el laboratorio de evaluar los efectos del TNFR2 de forma independiente al TNFR1.

Se ha propuesto que el TNFR2 está involucrado en la vía de NF- κ B. En un modelo de ratón transgénico, tanto TNFR1 y TNFR2 son capaces de estimular la vía de NF- κ B en neuronas, mostrando papeles distintos en la supervivencia celular (Brink y Lodish 1998). En este modelo, TNFR2 induce la activación persistente de NF- κ B que resulta ser esencial para la supervivencia neuronal mientras que TNFR1 induce de forma transitoria al NF- κ B induciendo apoptosis (Brink y Lodish 1998). Así mismo, se ha propuesto que el TNFR2 tiene un papel neuroprotector al evitar que las neuronas sufran de muerte celular inducida por estrés celular y teniendo un importante papel en la regeneración tisular (Marchetti y cols. 2004). El análisis y comparación los corazones de ratones TNFR2-knockout, de TNFR1/2 knockout y ratones salvajes, sometidos a isquemia/reperfusión, mostraron que el TNRF2 tiene un papel cardioprotector a través de un mecanismo que implica la inducción de STAT3, SOCS3 y el factor de crecimiento vascular endotelial y/o la activación del JNK (Wang y cols. 2008).

3. Justificación

La disfunción endotelial vascular es considerada como un evento inicial en el desarrollo de las alteraciones vasculares y un potente factor contribuyente en la patogénesis de la enfermedad vascular. La revisión de la literatura sugiere la importancia del TNFR2 en la diabetes, señalándose un incremento en los niveles circulantes del sTNFR2 en pacientes DT2 y con condiciones relacionadas al desarrollo de la enfermedad como lo son la obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares, sin embargo, el mecanismo exacto y los factores involucrados se desconocen.

El papel específico del TNFR2 en alteraciones fisiopatológicas donde existe un incremento crónico de la glucosa circulante ha sido poco caracterizado, la mayor parte de la información disponible, se refiere a asociaciones entre la cuantificación de los niveles circulantes del receptor soluble con la presencia o desarrollo de la correspondiente enfermedad. Así mismo, en personas que no son diabéticas se ignora que papel tiene el TNFR2 en la presentación o desarrollo de disfunción endotelial y que factores pudieran estar involucrados o afectados directamente e incluso que función tienen esos factores endoteliales en la fisiopatología de la DT2.

Por lo que, en el paciente DT2 el receptor TNFR2 podría tener un papel crítico en la inducción de disfunción y daño endotelial, constituyéndose como un nuevo mecanismo por el cual la hiperglicemia podría dañar al endotelio y el estudio de esta relación podría suministrar información invaluable que permitiría la detección temprana de alteraciones endoteliales, detección temprana de daño e incluso el desarrollo de mejoras diagnósticas y terapéuticas.

4. Hipótesis

El aumento crónico de glucosa induce el proceso inflamatorio, incrementando los niveles del sTNFR2 y los indicadores asociados a función endotelial.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar la relación del sTNFR2 con el aumento crónico de la glucosa y con los indicadores de inflamación y de función endotelial.

5.2 Objetivos específicos

En sujetos en riesgo y pacientes DT2

1. Caracterizar clínica, antropométrica y metabólicamente (TA, IMC, GA, HbA1c, insulina, péptido C, HOMA-Beta, TGC, Colesterol, HDL, LDL, ácido úrico, HOMA-IR y FRS).
2. Determinar la relación del sTNFR2, sTNF y sTNFR1 con el control glucémico (GA, HbA1c) y metabolismo de carbohidratos (insulina, péptido C, HOMA-Beta).
3. Determinar la relación de los niveles plasmáticos del sTNFR2 con los indicadores de inflamación (hsPCR, IL-6, MCP-1) e indicadores de función endotelial (VCAM-1, ICAM-1 y NO).

6. Metodología

6.1 Diseño de estudio

El presente proyecto es un estudio comparativo que incluyó a un grupo de 283 sujetos: 171 sujetos en riesgo (SR) con el antecedente familiar de DT2 en primer grado y 107 pacientes con DT2.

6.2 Muestreo y protocolos experimentales

6.2.1 Selección de la muestra

La conformación del grupo de estudio se realizó de acuerdo a los siguientes criterios:

a) Criterios de inclusión

1. Género indistinto.
2. Edad de 18 a 60 años.
3. Tener diagnóstico de DT2 menor a 10 años o ser sujeto no diabético.
4. Aceptación por escrito de participación en el estudio.
5. Concluir la evaluación clínica, toma de muestra sanguínea y la evaluación antropométrica.

b) Criterios de exclusión

1. Cursar con alguna patología no relacionada con DT2 al momento del estudio.
2. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
3. No concluir la toma de muestra sanguínea, la evaluación clínica y/o antropométrica.
4. Negativa a la aceptación por escrito de participación en el estudio.
5. Pacientes DT2 con insulino terapia.
6. Tener una enfermedad pro-inflamatoria crónica (artritis, rinitis, neoplasias, enfermedad autoinmune, enfermedad hepática crónica).
7. Tener una enfermedad endocrina (hipertiroidismo, hipotiroidismo o enfermedad de Cushing).

6.2.2 Variables clínicas y metabólicas

En la **Tabla 4** se enlistan las variables determinadas en la cohorte de estudio. Las técnicas que se emplearon para medirlas se presentan en el **Anexo 12.4**. Un Índice de masa corporal (**IMC**) de 25.0 a 30 Kg/m² fue considerado como sobrepeso y un IMC > 30 Kg/m² como obesidad (WHO 2020). Dislipidemia fue definida como: niveles circulantes de triglicéridos

(TGC) > 150 mg/dL, colesterol > 200 mg/dL, lipoproteínas de alta densidad (HDL) < 40 mg/dL o lipoproteínas de baja densidad (LDL) > 130 mg/dL (ADA 2021). La RI se definió por HOMA-IR > 2.6 (Qu y cols. 2011).

Tabla 4. Variables clínicas y metabólicas realizadas en la cohorte.

Variable	Técnica
Edad (años)	---
Índice de masa corporal (IMC)	Peso/Talla ²
Presión arterial (PA)	---
Glucosa de ayuno (GA)	Glucosa oxidasa
Tolerancia oral a la glucosa (TOG)	Glucosa oxidasa
Hemoglobina glucosilada (HbA1c)	Turbidimetría
Insulina	Electroquimioluminiscencia
Péptido C	Electroquimioluminiscencia
Triglicéridos (TGC)	Glicerol fosfato oxidasa
Colesterol	Enzimático colorimétrico
Lipoproteína de alta densidad (HDL)	Enzimático colorimétrico
Lipoproteína de baja densidad (LDL)	Enzimático colorimétrico
Ac úrico	Enzimático colorimétrico
HOMA-Beta	$\text{HOMA-Beta} = \frac{20 \times \text{Insulina } (\mu\text{UI/mL})}{\text{Glucosa de ayuno (mmol/L)} - 3.5}$
HOMA-IR	$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{Glucosa (mmol/L)}}{22.5}$
Puntuación de riesgo Framingham (FRS)	Algoritmo

6.2.3 Evaluación del metabolismo glucémico.

La evaluación glucémica se realizó de acuerdo con el control glucémico y las medidas de insulina, péptido C y HOMA-Beta (Li y cols. 2004). El control glucémico se categorizó

siguiendo las recomendaciones de la Guía para el Diagnóstico y Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención del Instituto Mexicano del Seguro Social y de la Asociación Americana de Diabetes (IMSS 2018, ADA 2021). Se consideró que los pacientes con DT2 estaban en control glucémico cuando la glucosa estaba entre 80 a 130 mg/dL y/o su HbA1c es $< 7\%$. El descontrol glucémico se definió por una glucosa > 130 mg/dL y/o una HbA1c $\geq 7\%$.

6.2.4 Pruebas de ELISA evaluadas en la población de estudio

En la **Tabla 5** se en listan los ensayos de ELISA realizados en la cohorte de estudio, indicando la compañía y rango de detección. En el **Anexo 12.5** se presentan las técnicas de medición de las variables mas a detalle.

Tabla 5. Ensayos de ELISA realizadas en la cohorte de estudio.

Marcador	Compañía	Rango de detección
Factor de necrosis tumoral soluble (sTNF)	PreproTech	15.6-1000 pg/mL
Receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1)	PreproTech	1-47 ng/mL
Receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2)	Quantikine	7.8 - 500 pg/mL
Interleucina-6 (IL-6)	Quantikine	3.1 - 300 pg/mL
Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsPCR)	Roche Cobas	0.15-300 mg/L
Factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1)	Peptrotech	15.6-1000 pg/mL
Molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1)	Millipore	3.2 - 100 ng/mL
Molécula de adhesión intercelular (ICAM-1)	Millipore	15.6 - 1000 pg/mL
Óxido nítrico (NO)	Cayman	2.5 μ M

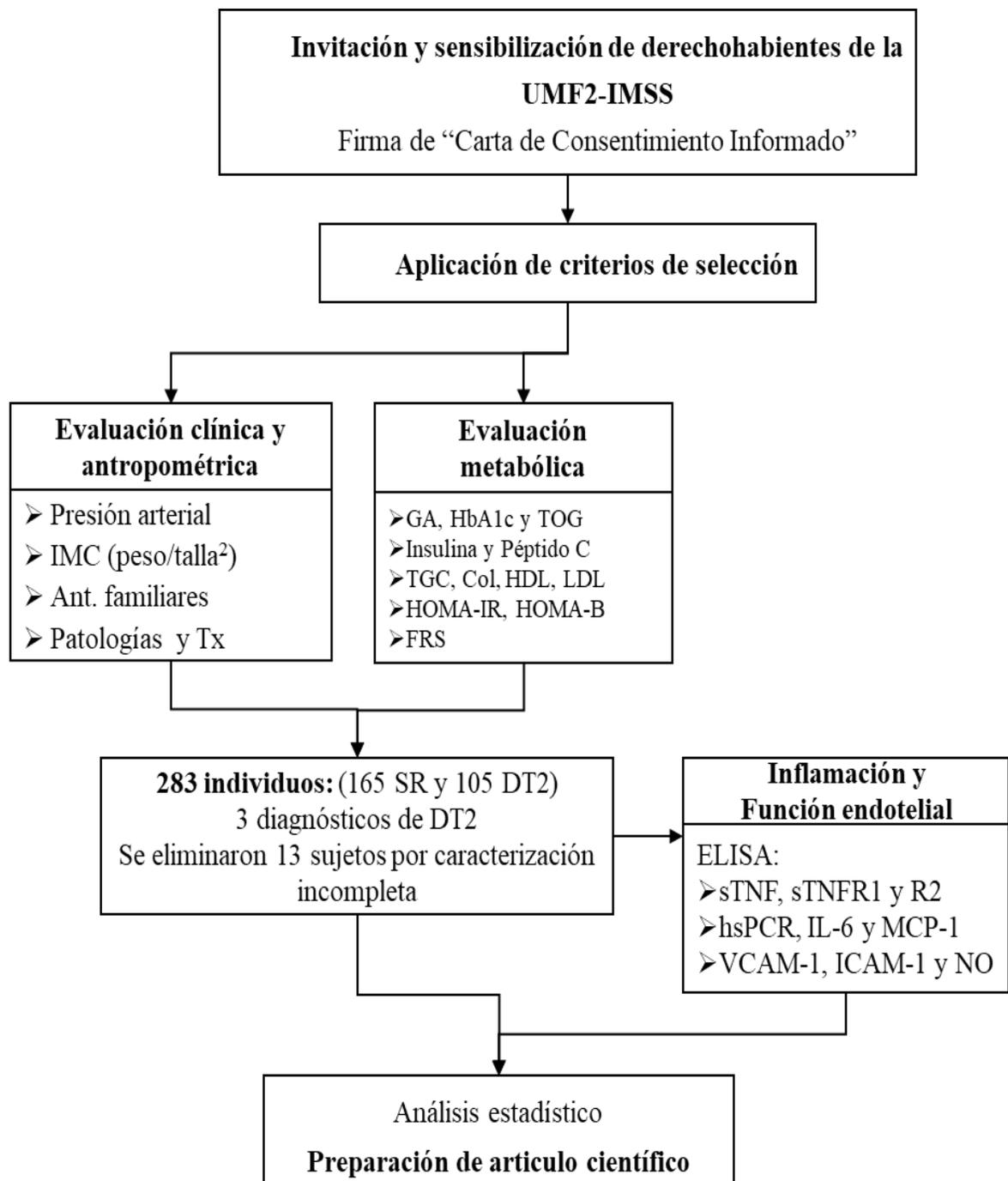
6.3 Estrategia de trabajo

Para el cumplimiento de los objetivos del presente proyecto de investigación se realizó una invitación directa en consultorio y sala de espera a los pacientes diabéticos y a familiares en primer grado derechohabientes de la UMF 2-IMSS, explicando los objetivos y los beneficios esperados del estudio, asignando una cita a los pacientes que aceptaron la invitación para la caracterización clínica, antropométrica y metabólica. Posterior a la firma de la *Carta de Consentimiento Informado* (**Anexo 12.1**) para la participación en proyectos de investigación clínica, se realizó la caracterización antropométrica (peso, talla, IMC; **Anexo 12.2**), la toma de muestras sanguíneas para la caracterización metabólica (GA, HbA1c, TGO, insulina, péptido C, colesterol, HDL, LDL, TGC y ácido úrico) y una historia clínica detallada que consideró la evaluación de los antecedentes familiares patológicos y el uso de fármacos que afecten la secreción o sensibilización a la insulina (**Anexo 12.3**).

Siguiendo los criterios de inclusión se conformo una cohorte de estudio inicial de 283 individuos, de los cuales se eliminaron a 13 individuos por no haber concluido la toma de muestra sanguínea o la caracterización clínica. Considerando los criterios de inclusión se conformo un grupo de 160 sujetos en riesgo y 105 pacientes DT2, los cuales fueron evaluados clínica, antropométrica y metabólicamente, realizándose el diagnóstico de diabetes en 3 individuos (prueba diagnóstica de TOG y/o una glucosa postprandial > 200 mg/dL).

La recolección de las muestras se realizó en tubos con activador de coágulo para las mediciones metabólicas y con EDTA para la obtención de plasma al que se le añadió un coctel de inhibidores de serin, cistein y metaloproteasas para ser almacenadas a menos 70°C, para realizar a posteriori las cuantificaciones del TNF y sus receptores sTNFR1 y sTNFR2, los marcadores circulatorios de inflamación (hsCRP, IL-6, MCP-1) y función endotelial (VCAM-1, ICAM-1 y NO). Por último se realizó el análisis estadístico y presentación de resultados. En la **Figura 5** se muestra el diagrama general de trabajo.

Figura 5. Estrategia de trabajo llevada a cabo en el proyecto.



6.4 Análisis estadístico

Los datos se analizaron con SPSS para Windows versión 25.0 (SPSS, Chicago, IL). Las variables categóricas se expresaron como porcentajes y se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para su comparación. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de la distribución de los datos. Las variables continuas paramétricas se analizaron mediante la prueba de T de student para muestras independientes o ANOVA de una vía, mientras que las variables no paramétricas se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney o ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis según el número de grupos comparados. Los resultados se expresaron como medias \pm desviaciones estándar o mediana y rango intercuartílico (IQR) del percentil 25 al 75. Se utilizó la prueba de correlación de Spearman para investigar la asociación entre sTNF, sTNFR1 y sTNFR2 con las variables metabólicas, de resistencia a la insulina y función β -celular. Las diferencias y los análisis de correlación entre los SR y los pacientes con DT2 se consideraron estadísticamente significativos para $P < 0.05$.

Se realizaron análisis de regresión lineal multivariable ajustado por edad, género e IMC para determinar la asociación entre los componentes solubles del sistema TNF con las variables metabólicas, de resistencia a la insulina y función β -celular. Así mismo, se utilizó la prueba post hoc de Bonferroni para la corrección de comparación de medias y análisis de correlación múltiples, utilizando un umbral de significación de 0.008 (0.05/6 comparaciones). Los gráficos estadísticos se generaron utilizando GraphPad Prism para Windows versión 8.0.1 (San Diego, CA).

7. Resultados

7.1 Caracterización de la población total de estudio

7.1.1 Caracterización clínica, antropométrica y metabólica

El proyecto se integró por un estudio comparativo que incluyó a 265 individuos: 160 familiares en primer grado de pacientes DT2 (SR) y 105 pacientes con diagnóstico de DT2. Se realizó el diagnóstico de diabetes en 3 individuos (TOG con glucosa postprandial > 200 mg/dL). Para el análisis estadístico se eliminaron 13 individuos por caracterización incompleta. Las características demográficas y clínicas de la población total del estudio se presentan en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Características demográficas y clínicas de la población de estudio.

Variable	Población total (n=265)
Edad (años)	50.5 ± 10.5
Género F/M (%)	58.1/41.9
HTA (%)	21.3
SM (%)	67.5
Sobrepeso (%)	37.7
Obesidad (%)	29.1
PAS (mmHg)	116.8 ± 11.9
PAD (mmHg)	76.7 ± 8.5
IMC (Kg/m ²)	27.7 ± 5.1

Los datos se muestran como media ± desviación estándar. Abreviaturas: femenino/masculino (F/M), hipertensión arterial (HTA), síndrome metabólico (SM) presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), índice de masa corporal (IMC).

Como se observa en la **Tabla 7**, la población de estudio presenta hiperglicemia leve con niveles de glucosa y HbA1c ligeramente incrementados, dislipidemia (niveles de TGC mayor a 150 mg/dL y HDL < 40 mg/dL), baja funcionalidad beta celular (HOMA-Beta < 100%) y un riesgo cardiovascular moderado (FRS < 10% se considera riesgo bajo, un FRS de 10 a 20% se considera un riesgo moderado y valores > 20% un riesgo alto). La insulina, el péptido C, el colesterol, ácido úrico y HOMA-IR se encontraron en niveles considerados por debajo del valor de referencia.

Tabla 7. Características metabólicas de la población total de estudio.

Variable	Población total (n=265)	Valor de Referencia
GA (mg/dL)	105.0 (93.0 – 139.0)	< 100
HbA1c (%)	5.6 (5.2 – 6.9)	< 5.5
Insulina (μU/mL)	8.8 (5.9 – 12.8)	< 12
Péptido C (ng/mL)	2.5 (1.8 – 3.2)	< 3.5
TGC (mg/dL)	162.0 (112.5 – 226.5)	< 150
Colesterol (mg/dL)	153.0 (123.2 – 196.5)	< 200
HDL (mg/dL)	25.0 (12.0 – 37.0)	> 40
LDL (mg/dL)	96.0 (77.2 – 122.7)	< 100
Ácido úrico (mg/dL)	5.1 ± 1.3	< 7.5
HOMA-IR	2.5 (1.6 – 4.2)	< 2.6
HOMA-Beta (%)	74.4 (36.4 – 122.9)	> 100
FRS (%)	17.3 (7.3 – 31.4)	< 10

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. P < 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

7.1.2 Análisis del sistema TNF en la población total

En la población total, el nivel medio del sTNFR2 fue de 2301.2 ± 732.6 pg/mL, del receptor TNFR1 fue de 541.9 ± 85.2 pg/mL y de sTNF fue de 107.6 ± 53.1 pg/mL. Los niveles plasmáticos del sTNF en la cohorte total correlacionaron con el sTNFR1 ($P= 0.019$) y el sTNFR2 ($P < 0.0001$). Los análisis de correlación del sTNFR2, sTNFR1 y del sTNF con las variables metabólicas para la población total se presentan en la **Tabla 8**, **Tabla 9** y **Tabla 10** respectivamente. Adicionalmente, considerando que la población de estudio presentó un riesgo cardiovascular moderado y que interesantemente, se encontró correlación entre el sTNFR2 y sTNF con el FRS, se realizó un análisis más detallado de la población total por el riesgo vascular que se presenta en el **Anexo 12.5**.

Tabla 8. Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas en la población total.

sTNFR2 vs.	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.443**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.417*	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	0.032	0.601
Péptido C (ng/mL)	0.263**	< 0.0001
TGC (mg/dL)	0.092	0.133
Colesterol (mg/dL)	0.028	0.648
HDL (mg/dL)	-0.034	0.577
LDL (mg/dL)	0.036	0.556
Ácido úrico (mg/dL)	-0.055	0.375
HOMA-IR	0.310**	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	0.338**	< 0.0001
FRS (%)	0.210**	0.001

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Tabla 9. Correlación del sTNFR1 con las variables metabólicas en la población total.

sTNFR1 vs.	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.139*	0.024
HbA1c (%)	0.124*	0.044
Insulina (μU/mL)	0.244*	< 0.0001
Péptido C (ng/mL)	0.161**	0.009
TGC (mg/dL)	0.139*	0.024
Colesterol (mg/dL)	0.062	0.316
HDL (mg/dL)	-0.094	0.127
LDL (mg/dL)	0.128*	0.038
Ácido úrico (mg/dL)	-0.004	0.952
HOMA-IR	0.205**	0.001
HOMA-Beta (%)	0.100	0.103
FRS (%)	0.081	0.187

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Tabla 10. Correlación del sTNF con las variables metabólicas en la población total.

sTNF vs.	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.554**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.565**	< 0.0001
Insulina (µU/mL)	0.125*	0.043
Péptido C (ng/mL)	0.299**	< 0.0001
TGC (mg/dL)	0.239**	< 0.0001
Colesterol (mg/dL)	-0.014	0.823
HDL (mg/dL)	-0.227**	< 0.0001
LDL (mg/dL)	0.070	0.257
Ácido úrico (mg/dL)	-0.051	0.411
HOMA-IR	0.418**	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	-0.367**	< 0.0001
FRS (%)	0.370**	< 0.0001

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

7.2 Caracterización de los SR y pacientes DT2

7.2.1 Caracterización clínica, antropométrica y metabólica

Las características clínicas y antropométricas de los sujetos en riesgo y los pacientes DT2 se presentan en la **Tabla 11**. La caracterización antropométrica y metabólica mostró que el 35.2 % de los pacientes con DT2 tenían sobrepeso y el 40.0 % obesidad. El manejo farmacológico en los pacientes DT2 fué con metformina y/o glibenclamida en el 84.8 % (49.5% con metformina sola, 28.6 % metformina combinada con glibenclamida y 6.7 % solo con glibenclamida).

Tabla 11. Características clínicas y antropométricas de los SR y pacientes DT2.

Variable	SR (n=160)	DT2 (n=105)	Valor P
Edad (años)	48.9 ± 10.8	53.0 ± 9.5	0.003
Género F/M (%)	59.4/40.6	56.2/43.8	0.012
HTA (%)	21.3	48.6	< 0.0001
SM (%)	50.0	94.3	< 0.0001
Sobrepeso (%)	39.4	35.2	0.147
Obesidad (%)	21.9	40.0	0.009
Duración DT2 (años)	---	5.22 ± 5.04	---
PAS (mmHg)	114.65 ± 12.11	120.19 ± 10.91	< 0.0001
PAD (mmHg)	75.56 ± 9.04	78.52 ± 7.49	0.003
IMC (Kg/m²)	26.67 ± 4.91	29.28 ± 5.13	< 0.0001

Los datos se muestran como media ± desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba X² o prueba de U de Mann-Whitney. P < 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: femenino/masculino (F/M), hipertensión arterial (HTA), síndrome metabólico (SM), presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), índice de masa corporal (IMC).

En el análisis de las características metabólicas de los SR y los pacientes DT2 se encontraron diferencias significativas en todas las variables, excepto para la insulina y el colesterol (**Tabla 12**). El 23.1% (37 sujetos) de los SR mostró alteraciones en la glucemia (GA 100-125 mg/dL y/o una TOG > 200 mg/dL) diagnosticándose como prediabéticos. Así mismo, el 84.8% de los pacientes DT2 fueron resistentes a la insulina (HOMA-IR >2.6) y el 100.0% dislipidémicos. La evaluación de la función de las células beta mostró niveles bajos del índice HOMA-Beta con niveles más altos de péptido C en pacientes con DT2.

Tabla 12. Características metabólicas de los SR y pacientes DT2.

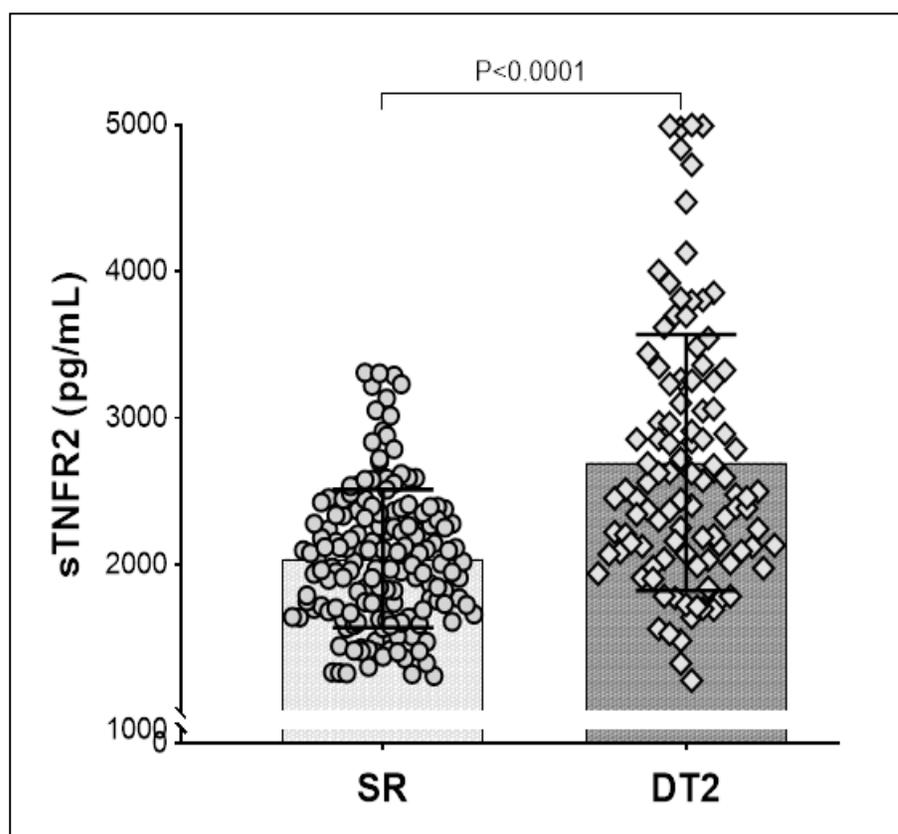
Variable	SR (n=160)	DT2 (n=105)	Valor P
GA (mg/dL)	95.0 (87.2 – 103.0)	174.0 (127.0 – 244.0)	< 0.0001
HbA1c (%)	5.2 (5.0 – 5.5)	7.7 (6.6 – 10.0)	< 0.0001
Insulina (µU/mL)	8.4 (5.8 – 12.7)	9.5 (6.1 – 13.7)	0.263
Péptido C (ng/mL)	2.2 (1.6 – 2.9)	2.9 (2.3 – 3.7)	< 0.0001
TGC (mg/dL)	142.5 (95.2 – 207.7)	185.0 (141.5 – 257.0)	< 0.0001
Colesterol (mg/dL)	153.0 (123.2 – 196.5)	164.0 (134.0 – 205.0)	0.172
HDL (mg/dL)	28.0 (11.0 – 40.7)	24.0 (12.0 – 33.0)	0.044
LDL (mg/dL)	96.0 (77.2 – 122.7)	113.0 (82.5 – 145.5)	0.008
Ácido úrico (mg/dL)	5.2 ± 1.3	5.0 ± 1.2	< 0.0001
HOMA-IR	1.9 (1.3 – 2.9)	4.2 (2.6 – 6.4)	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	103.1 (70.9 – 143.5)	29.0 (17.0 – 60.6)	< 0.0001
FRS (%)	10.1 (4.1 – 19.1)	31.6 (19.8 – 39.5)	< 0.0001

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de T de student o U de Mann-Whitney. P < 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

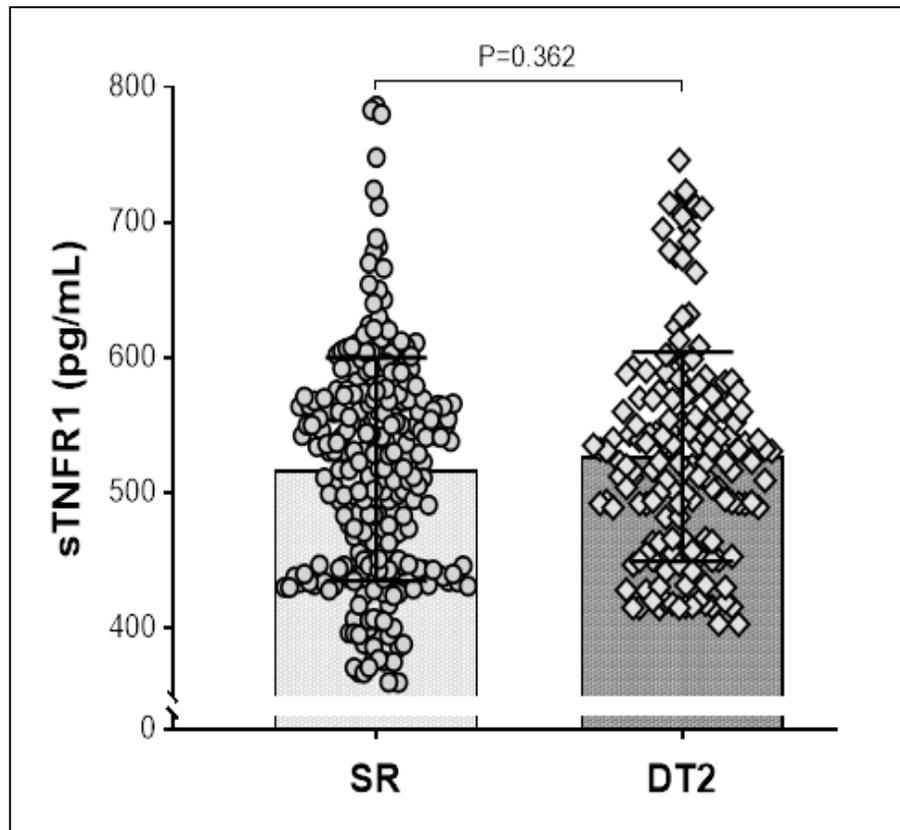
7.2.2 Análisis del sistema TNF en SR y pacientes DT2

El análisis de comparación de medias mostró que el sTNFR2 y sTNF fueron significativamente diferentes en los SR vs. los pacientes DT2, mientras que el sTNFR1 no mostró diferencia. En la **Figura 6** se muestra la comparación de los niveles plasmáticos del sTNFR2 para los SR vs. pacientes DT2, en la **Figura 7** se muestra la comparación para los niveles plasmáticos del sTNFR1 en los SR vs pacientes DT2 y en la **Figura 8** para los del sTNF en los SR vs. los pacientes DT2.

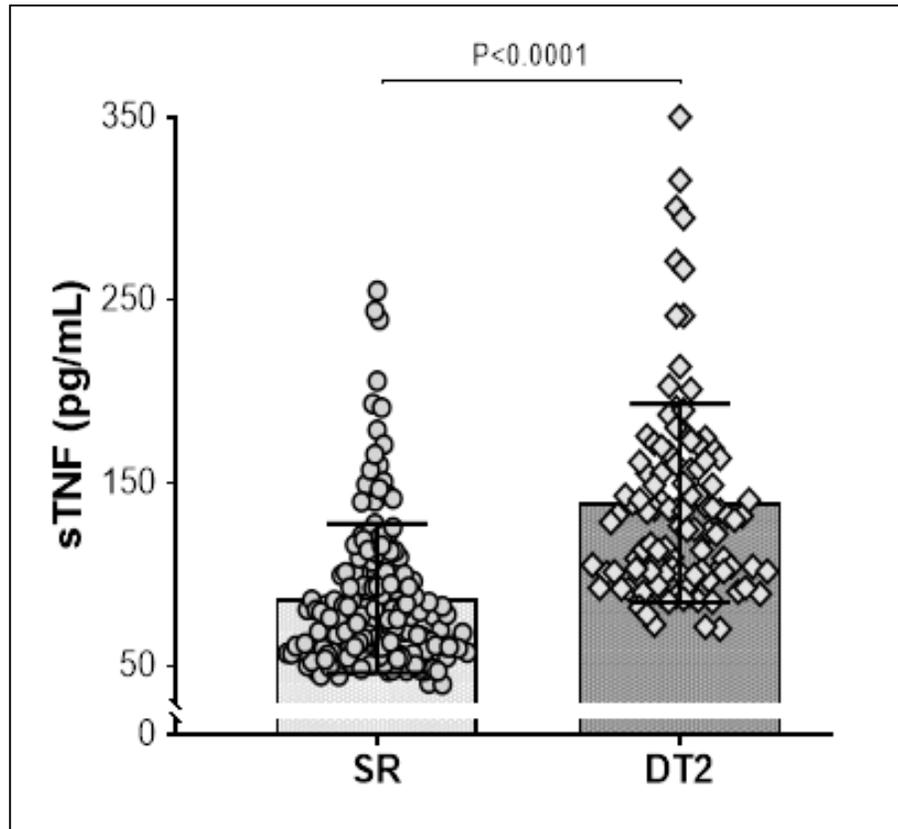
Figura 6: Niveles circulantes del sTNFR2 para los SR y los pacientes DT2.



Los niveles plasmáticos del sTNFR2 fueron de 2041.5 ± 870.2 mg/dL para los SR frente a 2696.8 ± 873.4 pg/mL para los pacientes DT2. Los datos se muestran como medias \pm desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: receptor soluble 2 de TNF (sTNFR2), sujetos en riesgo (SR), pacientes con diabetes tipo 2 (DT2).

Figura 7: Niveles circulantes del sTNFR1 para SR y los pacientes DT2.

Los niveles plasmáticos del sTNFR1 fueron de 538.0 ± 87.4 pg/mL para los SR frente a 547.8 ± 81.8 pg/mL para los pacientes DT2. Los datos se muestran como medias \pm desviación estándar. Las comparaciones entre grupos se analizaron mediante la prueba T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: receptor soluble 1 de TNF (sTNFR1), sujetos en riesgo (SR), pacientes con diabetes tipo 2 (DT2).

Figura 8. Niveles circulantes del sTNF para SR y los pacientes con DT2.

Los niveles de sTNF para los SR fueron de 86.9 ± 40.6 pg/mL frente a 139.1 ± 54.5 pg/mL para los pacientes DT2. Los datos se muestran como medias \pm desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), sujetos en riesgo (SR), pacientes con diabetes tipo 2 (DT2).

El sTNFR2 y el sTNF mostraron correlación con las variables de control glucémico (GA, HbA1c y HOMA-Beta) y con HOMA-IR en los pacientes DT2. Los detalles de los análisis de correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2 se muestran en la **Tabla 13** y en la **Tabla 14**.

Tabla 13. Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.

sTNFR2 vs.	SR		DT2	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
sTNF (pg/mL)	-0.102	0.198	0.190	0.053
sTNFR1 (pg/mL)	-0.014	0.856	-0.003	0.977
GA (mg/dL)	0.099	0.214	0.423**	< 0.0001
HbA1c (%)	-0.039	0.621	0.505**	< 0.0001
Insulina (μU/mL)	0.036	0.655	-0.062	0.529
Péptido C (ng/mL)	0.148	0.061	0.117	0.236
TGC (mg/dL)	-0.074	0.350	0.057	0.560
Colesterol (mg/dL)	0.031	0.695	-0.014	0.823
HDL (mg/dL)	0.115	0.146	-0.203*	0.038
LDL (mg/dL)	-0.042	0.595	0.012	0.900
Ácido úrico (mg/dL)	0.034	0.666	-0.126	0.203
HOMA-IR	-0.003	0.973	0.234*	0.016
HOMA-Beta (%)	-0.003	0.973	-0.354**	< 0.0001
FRS (%)	-0.140	0.077	0.092	0.349

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Tabla 14. Correlación del sTNF con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.

sTNF vs.	SR		DT2	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
sTNFR1 (pg/mL)	0.236**	0.003	-0.027	0.785
sTNFR2 (pg/mL)	-0.102	0.198	0.190*	0.050
Glucosa (mg/dL)	0.197*	0.013	0.353**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.178*	0.024	0.405**	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	0.235**	0.003	-0.148	0.132
Péptido C (ng/mL)	0.263**	0.001	-0.114	0.245
TGC (mg/dL)	0.128	0.107	0.166	0.090
Colesterol (mg/dL)	0.084	0.289	-0.026	0.790
HDL-C (mg/dL)	-0.183*	0.021	-0.223*	0.022
LDL-C (mg/dL)	-0.036	0.652	0.018	0.854
Ácido úrico (mg/dL)	-0.020	0.798	0.009	0.929
HOMA-IR	0.260**	0.001	0.053	0.592
HOMA-Beta (%)	-0.112	0.157	-0.350**	< 0.0001
FRS	0.107	0.176	-0.016	0.870

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Interesantemente el sTNFR1 mostró correlación con todas las variables del metabolismo de carbohidratos (GA, HbA1c, insulina y péptido C), lípidos (TGC y HDL), RI y con el porcentaje de riesgo cardiovascular (FRS) en los sujetos en riesgo, mientras que no hubo asociación con ninguna variable en los pacientes DT2, como se muestra en la **Tabla 15**.

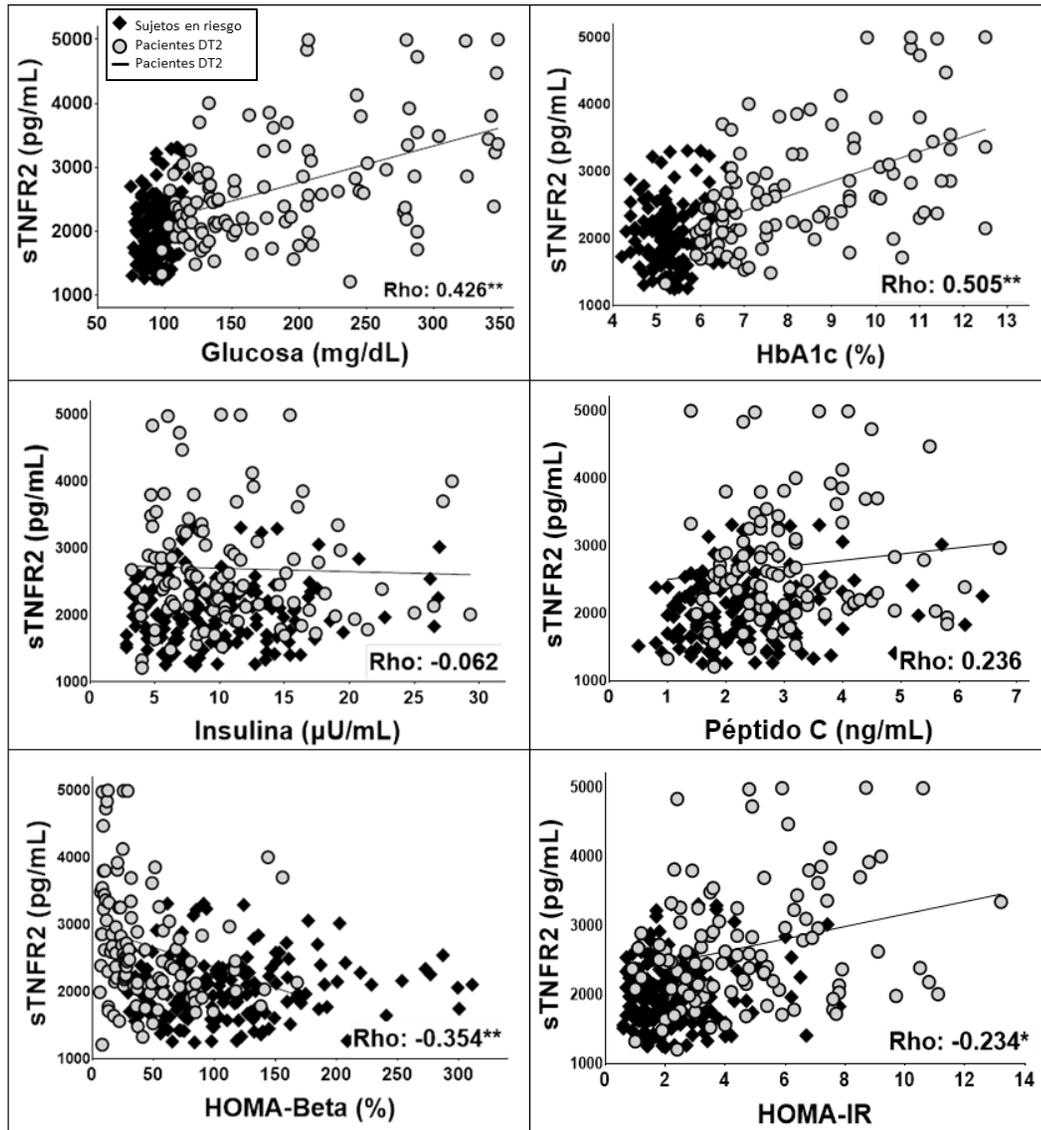
Tabla 15. Correlación del sTNFR1 con las variables metabólicas en los SR y pacientes DT2.

sTNFR1 vs.	SR		DT2	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
sTNF (pg/mL)	0.236**	0.003	-0.027	0.785
sTNFR2 (pg/mL)	-0.014	0.856	-0.003	0.977
GA (mg/dL)	0.399**	< 0.0001	-0.114	0.245
HbA1c (%)	0.342**	< 0.0001	-0.160	0.103
Insulina (μU/mL)	0.338**	< 0.0001	0.077	0.432
Péptido C (ng/mL)	0.309**	< 0.0001	-0.084	0.396
TGC (mg/dL)	0.249**	0.001	-0.059	0.552
Colesterol (mg/dL)	0.017	0.828	0.139	0.156
HDL (mg/dL)	-0.200*	0.011	0.121	0.219
LDL (mg/dL)	0.127	0.109	0.129	0.190
Ácido úrico (mg/dL)	-0.020	0.798	0.025	0.804
HOMA-IR	0.380**	< 0.0001	0.026	0.792
HOMA-Beta (%)	0.145	0.068	0.133	0.177
FRS (%)	0.212**	0.007	-0.117	0.234

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

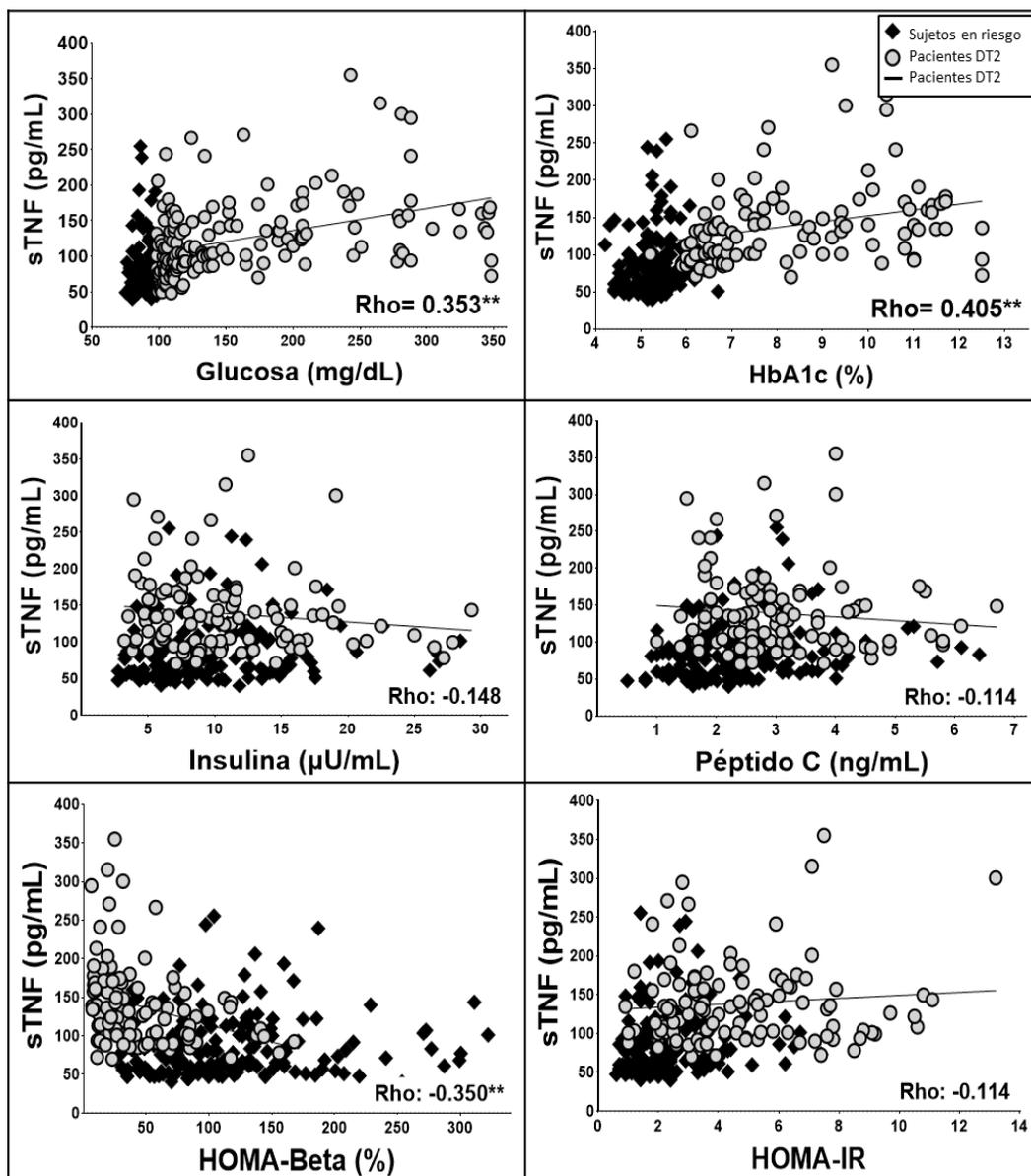
Los análisis de las variables relacionadas a control glucémico y su asociación con el sistema TNF mostró que el sTNFR2 y sTNF estaban asociados con glucosa, la HbA1c y con el HOMA-Beta (Figura 9 y Figura 10). El sTNFR1 no mostró asociación con ninguna variable en los pacientes DT2 (Figura 11).

Figura 9. Correlación del sTNFR2 con control glucémico en SR y pacientes DT2.



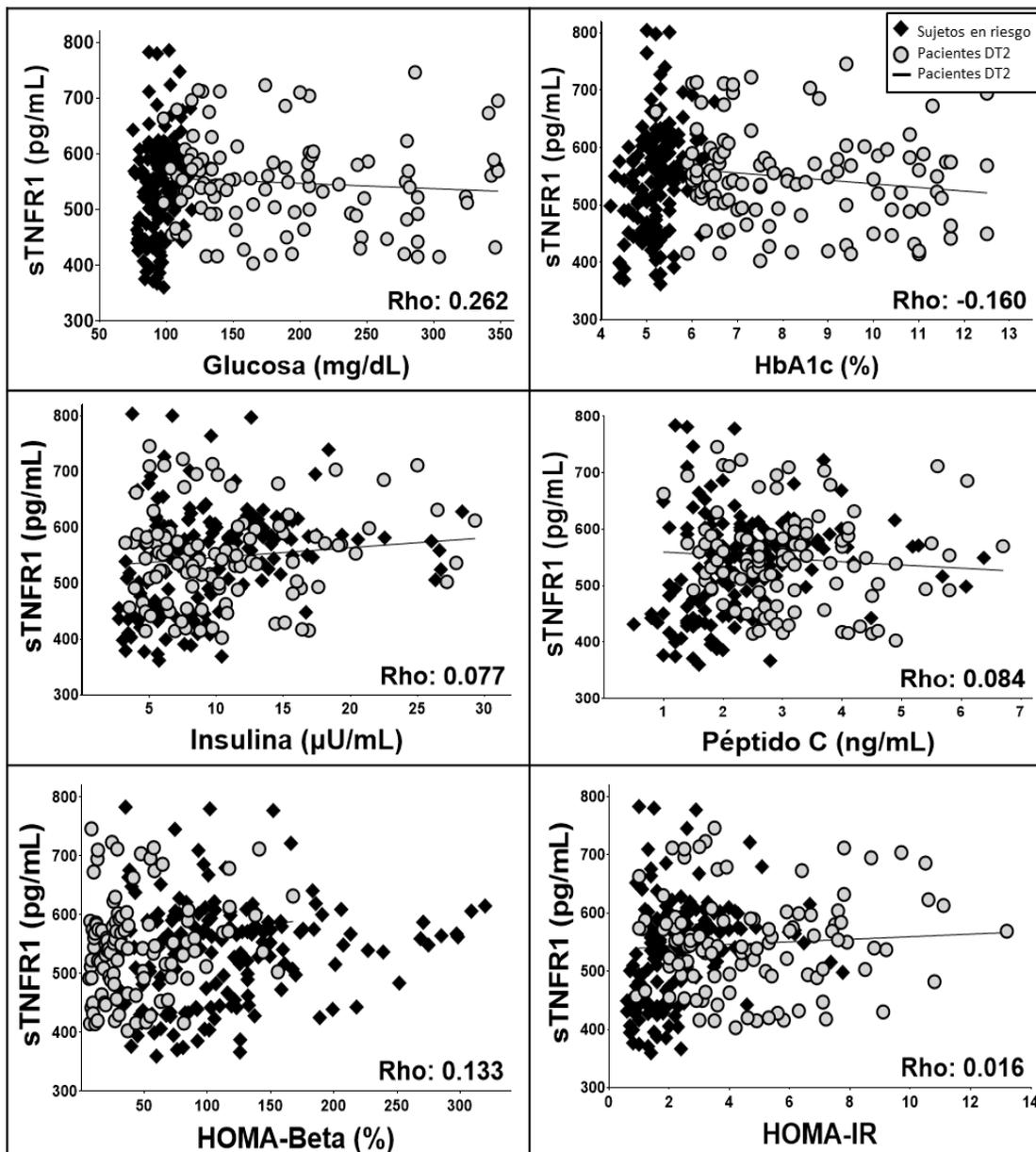
El valor de P mostrado se estimó a partir de los análisis de correlación de Spearman. Los coeficientes de correlación Rho corresponden al grupo de pacientes con DT2. **La correlación es significativa al nivel de 0.0001 (2 colas). Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), hemoglobina glucosilada (HbA1c), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

Figura 10. Correlación del sTNF con control glucémico en SR y pacientes DT2.



El valor de P mostrado se estimó a partir de los análisis de correlación de Spearman. Los coeficientes de correlación Rho corresponden al grupo de pacientes con DT2. **La correlación es significativa al nivel de 0.0001 (2 colas). Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), hemoglobina glucosilada (HbA1c) Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

Figura 11. Correlación entre el sTNFR1 con control glucémico en SR y pacientes DT2.



El valor de P mostrado se estimó a partir de los análisis de correlación de Spearman. Los coeficientes de correlación Rho corresponden al grupo de pacientes con DT2. **La correlación es significativa al nivel de 0.0001 (2 colas). Abreviaturas: Receptor-1 soluble del TNF (sTNFR1), hemoglobina glucosilada (HbA1c), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

7.2.3 Análisis de regresión lineal múltiple en los pacientes DT2

Considerando la asociación encontrada del sTNFR2 con las variables de control glucémico, se realizó el análisis de regresión lineal multivariable de los pacientes con DT2 mostrando que la HbA1c ($b= 0.504$, $P< 0.0001$) y el péptido C ($b= 0.167$, $P= 0.049$) eran determinantes independientes de los niveles de sTNFR2 ($R^2= 0.354$) luego del ajuste por edad, género e IMC (**Tabla 16**). Los niveles de sTNF solo presentaron asociación con HbA1c ($b= 0.272$, $P= 0.006$). sTNFR1 no presentó asociación significativa con ningún parámetro metabólico estudiado (datos no mostrados).

Tabla 16. Análisis de regresión lineal múltiple para sTNFR2 en los pacientes DT2.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
	B	Error estándar	Beta	t	Sig.
(Constante)	267.327	801.907		.333	0.740
Edad	15.531	7.488	0.170	2.074	0.041
Género	-366.438	146.323	-0.210	-2.504	0.014
IMC (Kg/m ²)	-3.475	14.727	-0.020	-.236	0.814
HbA1c (%)	222.383	36.155	0.504	6.151	< 0.0001
Péptido C (ng/mL)	128.190	64.406	0.167	1.990	0.049

Análisis de regresión lineal multivariable ajustada por edad, género e IMC. Abreviaturas: hemoglobina glucosilada (HbA1c), índice de masa corporal (IMC).

7.3 Sistema TNF en los pacientes DT2 por control glucémico

Los pacientes DT2 presentaron descontrol glucémico (definió por una glucosa > 130 mg/dL y/o una HbA1c \geq 7%) en un 77.1%. Cuando agrupamos a nuestros pacientes con DT2 según el control glucémico, podemos observar diferencia en la glucosa, HbA1c, HOMA-IR, HOMA-Beta y el FRS (**Tabla 17**). Los pacientes con DT2 con descontrol glucémico mostraron niveles más altos de sTNF y TNFR2 en comparación con los pacientes con DT2 con control glucémico. El sTNFR1 no mostro diferencia (**Tabla 18**).

Tabla 17. Características de los pacientes DT2 según el control glucémico.

Variable	Controlados (n=24)	Descontrolados (n=81)	Valor P
GA (mg/dL)	115.0 (108.0 – 125.0)	200.0 (149.0 – 278.5)	< 0.0001
HbA1c (%)	6.3 (6.1 – 6.5)	8.7 (7.2 – 10.7)	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	10.1 (8.5 – 14.9)	8.3 (6.0 – 12.9)	0.237
Péptido C (ng/mL)	2.8 (2.2 – 3.7)	2.9 (2.3 – 3.7)	0.960
TGC (mg/dL)	148.0 (129.5 – 204.7)	172.0 (135.0 – 206.0)	0.001
Colesterol (mg/dL)	92.5 (79.0 – 142.0)	114.0 (84.5 – 148.0)	0.378
HDL (mg/dL)	27.0 (12.2 – 34.0)	23.0 (12.0 – 32.0)	0.506
LDL (mg/dL)	165.0 (117.0 – 194.0)	184.0 (148.0 – 258.0)	0.051
Ácido úrico (mg/dL)	2.9 (2.3 – 4.4)	4.7 (2.8 – 6.8)	0.008
HOMA-IR	75.8 (55.4 – 96.7)	25.5 (13.0 – 40.3)	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	115.0 (108.0 – 125.0)	200.0 (149.0 – 278.5)	< 0.0001
FRS	2263.4 \pm 542.9	2825.2 \pm 913.2	0.003

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico, del percentil 25 al 75 o media \pm desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de prueba de U de Mann-Whitney. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Tabla 18. Sistema TNF en los pacientes DT2 según el control glucémico.

Variable	Controlados (n=24)	Descontrolados (n=81)	Valor P
sTNF (pg/mL)	110.7 ± 39.6	147.5 ± 55.6	< 0.0001
sTNFR1 (pg/mL)	566.3 ± 84.0	542.3 ± 80.6	0.238
sTNFR2 (pg/mL)	2263.4 ± 542.9	2825.2 ± 913.2	0.003

Los datos se muestran como medias ± desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba t de student. P < 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: tumor necrosis factor soluble (sTNF), receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2).

7.4. Análisis del sistema TNF por género en los SR y pacientes DT2

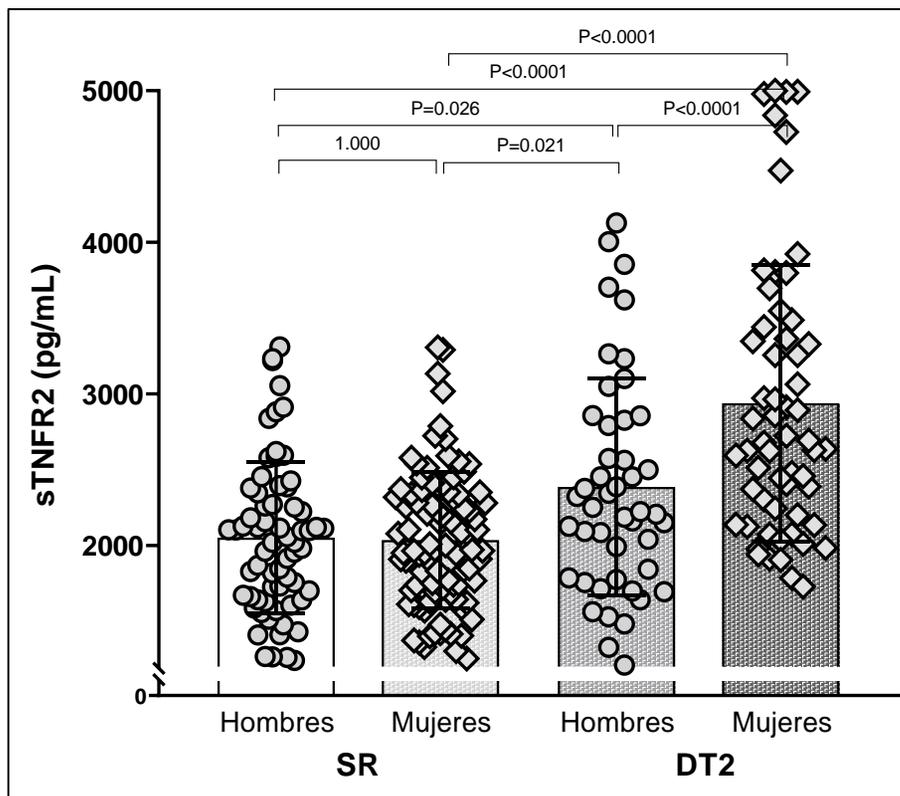
De forma adicional se realizó el análisis comparativo considerando el género del grupo de estudio encontrándose niveles más altos del sTNFR2 en las mujeres DT2 comparados con los hombres DT2 (Tabla 19). En la Figura 12 y en la Figura 13 se muestran los niveles de sTNFR2 y sTNF por género en sujetos de riesgo y pacientes DT2.

Tabla 19. Sistema TNF en los pacientes según el género y el diagnóstico de DT2.

Variable	SR		DT2	
	Hombres (n=65)	Mujeres (n=95)	Hombres (n=46)	Mujeres (n=59)
sTNF (pg/mL)	82.9 ± 39.5	89.6 ± 41.4	138.5 ± 57.9 [‡]	139.5 ± 52.1 [†]
sTNFR1 (pg/mL)	523.7 ± 79.0	547.8 ± 91.8	532.0 ± 78.4	560.2 ± 83.0
sTNFR2 (pg/mL)	2031.7 ± 478.9	2048.3 ± 466.6	2386.7 ± 718.7	2938.6 ± 911.8 ^{†§}

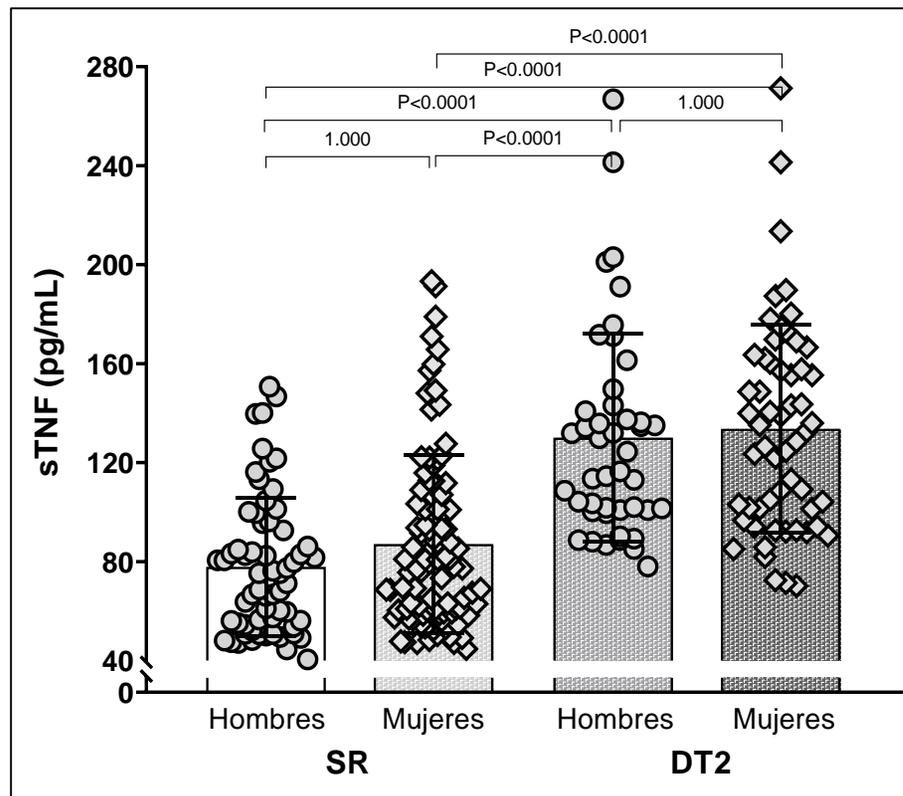
La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de ANOVA unidireccional ajustada con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. P < 0.008 (0.05/6 comparaciones) se consideró significativo. [§]Hombres diabéticos vs. mujeres diabéticas; [‡]sujetos en riesgo hombres vs. hombres diabéticos; [†]sujetos en riesgo mujeres vs. mujeres diabéticas.

Figura 12. Niveles de sTNFR2 por género en los SR y los pacientes con DT2.



Los datos se muestran como medias \pm desviación estándar. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba ANOVA unidireccional ajustada con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. $P < 0.008$ ($0.05/6$ comparaciones) se consideró significativo.

Figura 13. Niveles de sTNF por género en los SR y los pacientes con DT2.



Los datos se muestran como medias \pm desviación estándar. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba ANOVA unidireccional ajustada con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. $P < 0.008$ (0.05/6 comparaciones) se consideró significativo.

En la **Tabla 20** se muestran la comparación de las variables metabólicas en los SR. El análisis comparativo mostró diferencia significativa entre sujetos en riesgo mujeres y hombres solo para el ácido úrico. En la **Tabla 21** se muestran la comparación de las variables metabólicas en los pacientes DT2.

Tabla 20. Variables metabólicas en los SR por género.

Variable	Sujetos en riesgo (n=160)	
	Hombres (n=65)	Mujeres (n=95)
GA (mg/dL)	95.0 (92.0 – 102.0)	94.0 (86.0 – 103.0)
HbA1C (%)	5.2 (4.9 – 5.5)	5.2 (5.1 – 5.5)
Insulina (μU/mL)	8.1 (5.6 – 12.5)	9.2 (5.9 – 12.8)
Péptido C (ng/mL)	2.2 (1.6 – 2.8)	2.2 (1.6 – 3.0)
TGC (mg/dL)	151.0 (99.5 – 231.0)	138.0 (93.0 – 190.0)
Colesterol (mg/dL)	151.0 (120.0 – 184.0)	159.0 (127.0 – 200.0)
HDL (mg/dL)	28.0 (11.5 – 39.0)	28.0 (11.0 – 43.0)
LDL (mg/dL)	94.0 (75.0 – 118.0)	101.0 (80.0 – 131.0)
Ácido úrico	6.0 (5.0 – 7.0)	4.7 (4.0 – 5.3)[#]
HOMA-IR	1.8 (1.3 – 2.8)	2.1 (1.3 – 3.1)
HOMA-Beta (%)	93.3 (59.9 – 132.5)	107.1 (75.3 – 150.7)
FRS (%)	11.3 (5.2 – 20.2)	9.8 (3.5 – 18.6)

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico, del percentil 25 al 75. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis ajustada con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. $P < 0.008$ (0.05/6 comparaciones) se consideró significativo. [#]sujetos en riesgo hombres vs. sujetos en riesgo mujeres. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

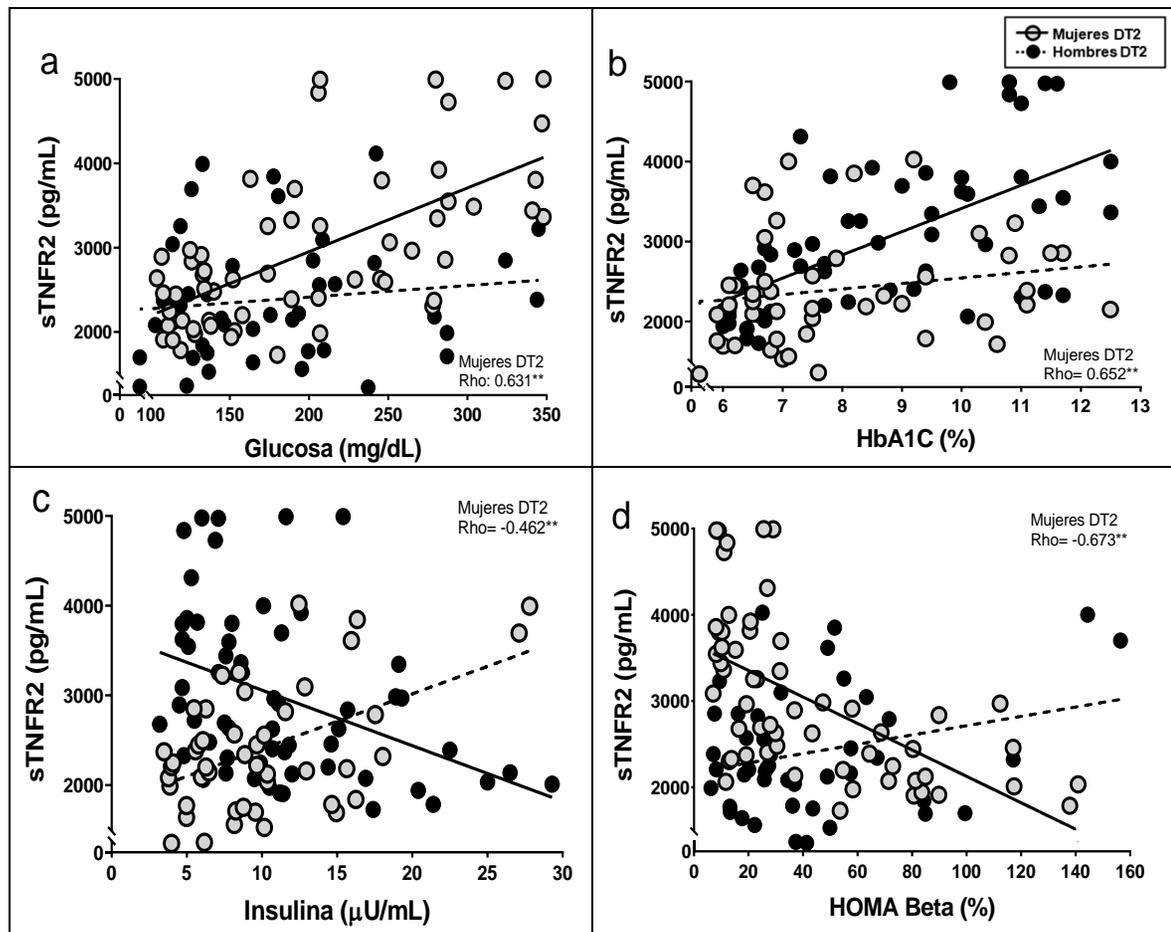
Tabla 21. Variables metabólicas en los pacientes DT2 por género.

Variable	Pacientes DT2 (n=102)	
	Hombres (n=46)	Mujeres (n=59)
Glucosa (mg/dL)	158.5 (125.5 – 209.2)^{‡ †}	180.0 (128.0 – 278.0)[§]
HbA1C (%)	7.2 (6.5 – 9.4)^{‡ †}	8.1 (6.6 – 10.1)[§]
Insulina (μU/mL)	8.8 (5.9 – 12.9)	10.1 (6.5 – 14.6)
Péptido C (ng/mL)	2.9 (2.0 – 3.4)^{‡ †}	2.8 (2.4 – 3.8)
TGC (mg/dL)	188.0 (139.5 – 311.0)[†]	183.0 (142.0 – 236.0)
Colesterol (mg/dL)	168.0 (133.0 – 208.0)	159.0 (135.0 – 205.0)
LDL (mg/dL)	115.5 (76.5 – 148.2)	113.0 (83.0 – 142.0)
HDL (mg/dL)	25.0 (12.0 – 34.0)	22.0 (12.0 – 32.0)
Ácido úrico	5.2 (4.0 – 6.5)	5.0 (4.0 – 5.7)
HOMA-IR	3.7 (2.4 – 6.0)^{‡ †}	4.7 (2.9 – 7.0)[§]
HOMA-Beta (%)	30.2 (19.8 – 55.3)^{‡ †}	29.0 (12.9 – 71.4)
FRS (%)	33.5 (19.5 – 44.4)	28.8 (19.9 – 35.7)[§]

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico, del percentil 25 al 75. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis ajustada con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. $P < 0.008$ (0.05/6 comparaciones) se consideró significativo. [§]Hombres diabéticos vs. mujeres diabéticas; [‡]sujetos en riesgo hombres vs. hombres diabéticos; [†]sujetos en riesgo mujeres vs. mujeres diabéticas. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

El análisis de correlación considerando género, mostró que en las mujeres DT2, los niveles plasmáticos del sTNFR2 se asociaron con las variables del metabolismo glucémico, pero no en hombres con DT2 (**Figura 14**).

Figura 14. Niveles plasmáticos del sTNFR2 con medidas de control glucémico en mujeres y hombres con DT2.



a): sTNFR2 frente a glucosa, b): sTNFR2 frente a HbA1C, c): sTNFR2 frente a insulina, d): sTNFR2 frente a HOMA-Beta. El valor de P se estimó a partir de los análisis de correlación de Spearman con la corrección de Bonferroni para muestras repetidas. $P < 0.008$ ($0.05/6$ comparaciones) se consideró significativo. Correlación para hombres DT2: glucosa: $Rho = 0.149$, $P = 0.321$; HbA1c: $Rho = 0.353$, $P = 0.016$, insulina: $Rho = 0.194$, $P = 0.196$ y HOMA-Beta: $Rho = 0.112$, $P = 0.458$. Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), hemoglobina glucosilada (HbA1c), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA).

7.5 Variables inflamatorias y de función endotelial.

7.5.1 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en la población total

En la valoración inflamatoria, se consideró la medición de los niveles plasmáticos de la hsCRP, la IL-6 y el MCP-1. Destaca que en la cohorte total de estudio encontramos niveles de hsCRP considerados como de riesgo moderado: 1.5 (0.7 – 3.3) mg/L. Para la evaluación de la función endotelial se consideraron los valores circulantes del VCAM-1, ICAM-1 y NO (Tabla 22).

Tabla 22. Variables inflamatorias y de función endotelial en la población total.

Variable	Población total (n=265)
hsCRP (mg/L)	1.5 (0.7 – 3.3)
IL-6 (pg/mL)	2.1 (1.7 – 2.8)
MCP-1 (pg/mL)	239.5 (189.3 – 297.5)
VCAM-1 (ng/mL)	11.4 ± 4.3
ICAM-1 (ng/mL)	51.2 (43.3 – 63.5)
NO (µM)	19.8 (12.8 – 28.6)

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

Los análisis de correlación se presentan en la **Tabla 23**. El sTNFR2 mostró asociación con el hsCRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1; mientras que el sTNFR1 se correlacionó con hsCRP, MCP-1, VCAM-1, ICAM-1 y NO. El sTNF correlacionó con todas las variables excepto el hsCRP.

Tabla 23. Análisis de correlación del sistema TNF con las variables inflamatorias y de función endotelial en la población total.

Variable	sTNFR2 vs.		sTNFR1 vs.		sTNF vs.	
	Rho	Rho	Rho	Valor P	Rho	Valor P
hsCRP (mg/L)	0.205**	0.141*	0.141*	0.060	0.116	0.060
IL-6 (pg/mL)	0.348**	0.066	0.066	0.001	0.206**	0.001
MCP-1 (pg/mL)	0.271**	0.122*	0.122*	< 0.0001	0.231**	< 0.0001
VCAM-1 (ng/mL)	0.222**	0.042**	0.042**	< 0.0001	0.272**	< 0.0001
ICAM-1 (ng/mL)	0.365**	0.122*	0.122*	< 0.0001	0.503**	< 0.0001
NO (µM)	0.055	-0.168*	-0.168*	0.047	0.122*	0.047

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

7.5.2 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2

El análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y los pacientes DT2 mostró diferencia significativa para todas las variables. En los pacientes DT2 se

encontraron niveles más altos de las variables inflamatorias y de función endotelial al compararlos con los sujetos en riesgo (**Tabla 24**).

Tabla 24. Variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2.

Variable	SR (n=160)	DT2 (n=105)	Valor P
hsCRP (mg/L)	1.4 (0.5 – 3.1)	1.8 (1.0 – 3.7)	0.014
IL-6 (pg/mL)	2.0 (1.6 – 2.3)	2.5 (2.0 – 3.2)	< 0.001
MCP-1 (pg/mL)	213.9 (165.4 – 271.1)	271.8 (228.7 – 341.4)	< 0.001
VCAM-1 (ng/mL)	10.9 ± 4.2	13.4 ± 3.6	< 0.001
ICAM-1 (ng/mL)	44.6 (40.5 – 49.6)	64.9 (60.5 – 68.1)	< 0.001
NO (µM)	18.8 (12.2 – 28.3)	21.4 (14.1 – 30.3)	0.030

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney o T de student. P< 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

El análisis de correlación mostró asociación del sTNFR2 con el hsCRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1. La **Tabla 25** muestra la correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial. El sTNF se asoció con el MCP-1 (Rho= 0.208, P= 0.033) y el VCAM-1 (Rho= 0.207, P= 0.035) en los pacientes DT2, en los SR no se encontró asociación con ninguna variable. El sTNFR1 estuvo asociado con hsCRP (Rho= 0.252, P= 0.001), ICAM-1 (Rho= 0.251, P= 0.001) y NO (Rho= -0.170, P= 0.026) en los SR, en los pacientes DT2 el sTNFR1 no tuvo asociación con ninguna variable.

Tabla 25. Correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2.

Variable	Rho	Valor P
hsCRP (mg/L)	0.251**	0.010
IL-6 (pg/mL)	0.521**	< 0.0001
MCP-1 (pg/mL)	0.314**	0.001
VCAM-1 (ng/mL)	0.272**	0.005
ICAM-1 (ng/mL)	0.210*	0.032
NO (μ M)	0.010	0.922

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

7.5.3 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 por control glucémico

Se consideró que los pacientes con DT2 estaban en descontrol glucémico cuando presentaban una glucosa > 130 mg/dL y/o una HbA1c $\geq 7\%$. La agrupación de los pacientes con DT2 según el control glucémico mostró diferencias significativas para todas las variables excepto para el NO (**Tabla 26**). En los pacientes DT2 con descontrol glucémico encontramos niveles más altos hsCRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1 en comparación con los pacientes con DT2 con control glucémico (**Tabla 26**).

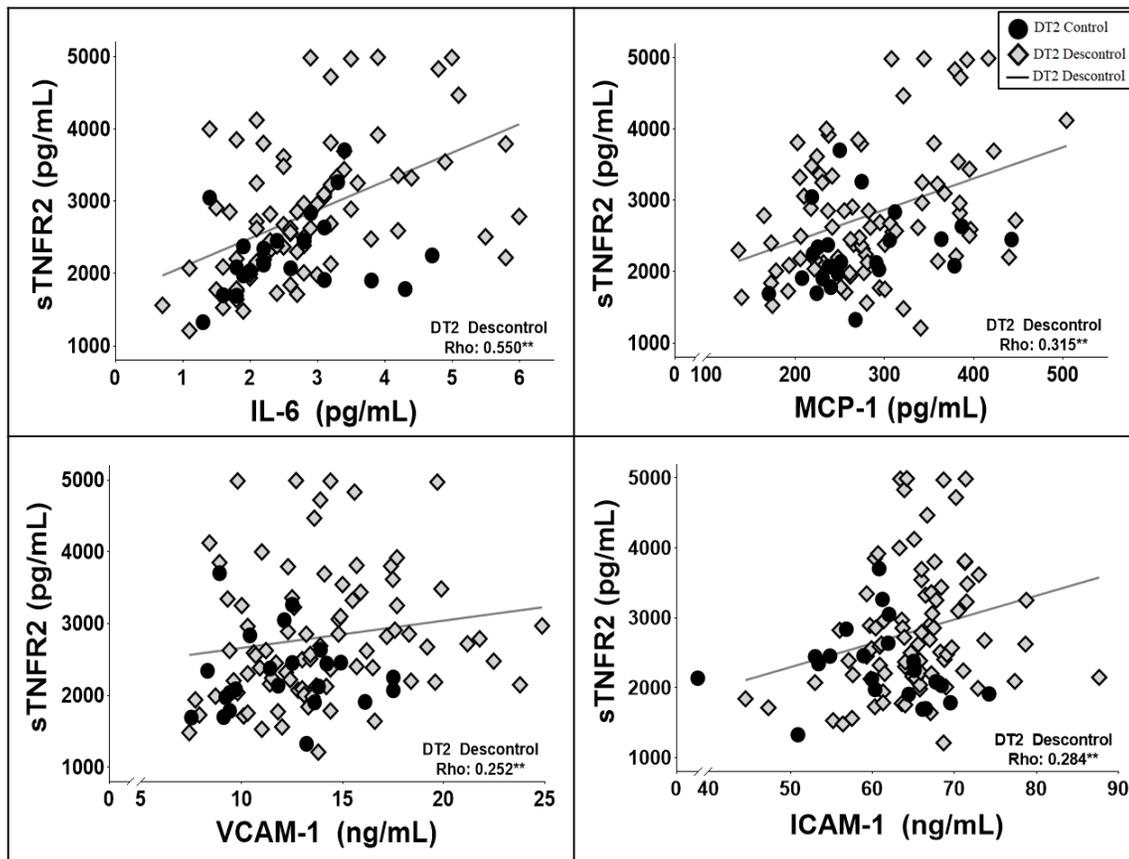
Tabla 26. Comparación de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 según el control glucémico.

Variable	Controlados (n=24)	Descontrolados (n=81)	Valor P
hsCRP (mg/L)	1.5 (0.6 – 3.1)	2.0 (1.0 – 4.2)	0.022
IL-6 (pg/mL)	2.3 (1.8 – 3.0)	2.6 (2.0 – 3.2)	< 0.0001
MCP-1 (pg/mL)	249.6 (225.0 – 305.6)	274.6 (229.4 – 342.9)	< 0.0001
VCAM-1 (ng/mL)	10.0 ± 4.2	12.0 ± 2.8	0.031
ICAM-1 (ng/mL)	61.9 (56.8 – 66.5)	65.6 (61.0 – 68.7)	< 0.0001
NO (µM)	21.9 (13.1 – 34.0)	21.4 (14.6 – 30.2)	0.095

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney o T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

El análisis de correlación de los componentes del sistema TNF con las variables inflamatorias y de función endotelial mostró que en los pacientes con control glucémico solo el sTNFR1 se asoció con hsCRP (Rho= 0.462, P= 0.026). El sTNF y el sTNFR2 no estuvieron asociados con ninguna variable. En los pacientes con descontrol glucémico solo el sTNF se asoció con MCP-1 (Rho= 0.266, P= 0.016); el sTNFR1 no se relacionó con ninguna variable. La **Figura 15** muestra la asociación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial (IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1).

Figura 15. Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en los SR y pacientes DT2.



El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1).

7.5.4 Análisis de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 y género.

El análisis de comparación de los niveles plasmáticos de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 por género mostró diferencia para la IL-6 y el VCAM-1, como se presenta en la **Tabla 27**.

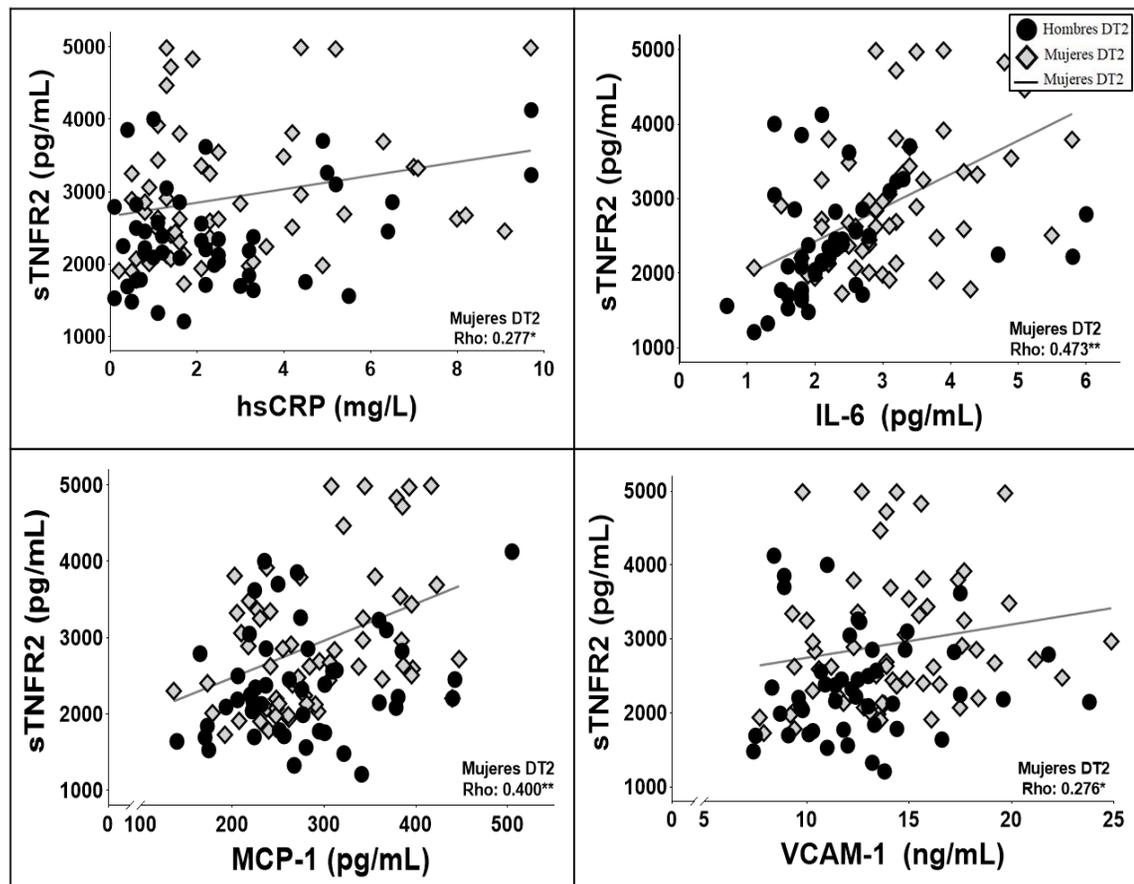
Tabla 27. Niveles plasmáticos de las variables inflamatorias y de función endotelial en los pacientes DT2 por género.

Variable	Hombres (n=46)	Mujeres (n=59)	Valor P
hsCRP (mg/L)	1.8 (0.7 – 3.2)	1.8 (1.1 – 4.2)	0.278
IL-6 (pg/mL)	2.1 (1.7 – 2.6)	2.9 (2.3 – 3.6)	< 0.0001
MCP-1 (pg/mL)	264.5 (222.0 – 315.0)	273.8 (237.2 – 344.3)	0.227
VCAM-1 (ng/mL)	12.5 ± 3.5	14.2 ± 4.0	0.007
ICAM-1 (ng/mL)	63.8 (59.6 – 66.6)	65.9 (61.1 – 68.6)	0.074
NO (µM)	22.2 (15.5 – 31.1)	20.9 (13.5 – 29.0)	0.514

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney o T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

Los análisis de correlación mostraron asociación del sTNFR2 con hsCRP ($Rho = 0.277$, $P < 0.034$), IL-6 ($Rho = 0.473$, $P < 0.0001$), MCP-1 ($Rho = 0.400$, $P = 0.002$) y VCAM-1 ($Rho = 0.276$, $P = 0.034$) en las mujeres DT2 (**Figura 16**): En los hombres DT2 solo se encontró asociación del sTNFR2 con la IL-6 ($Rho = 0.495$, $P < 0.0001$). sTNF y sTNFR1 no mostraron asociación con ninguna variable inflamatoria ni de función endotelial.

Figura 16. Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en pacientes DT2.



El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva (hsPCR), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1).

8. Discusión

Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que el control glucémico desordenado conduce a aumentos en los niveles de sTNFR2 y sTNF, pero no en los niveles de sTNFR1 en una cohorte de pacientes con DT2 y sujetos de riesgo no diabéticos. Así mismo, los niveles incrementados del sTNFR2 están asociados con los marcadores inflamatorios hsCRP, IL-6 y MCP-1 y de función endotelial VCAM-1 e ICAM-1, pero no con el NO. Los análisis basados en el género de nuestra cohorte después de mediciones simultáneas de sTNFR2, sTNFR1 y sTNF, considerando el control glucémico mostraron que los niveles de sTNFR2 circulantes eran significativamente más altos en mujeres diabéticas que en hombres diabéticos y estaban asociados con inflamación (IL-6 y MCP-1) y con función endotelial (VCAM-1 e ICAM-1).

Es importante señalar que nuestra población total presentó alteraciones antropométricas y metabólicas independientes del diagnóstico de DT2: el 64.9% de los pacientes presentaba sobrepeso u obesidad, el 92.5% dislipidemia y el 51.7% resistencia a la insulina. Además, los pacientes con DT2 mostraron un control glucémico desordenado (77.1%) superior al reportado en la población general en México (68.2%) (Shamah-Levy y cols. 2020). Nuestros pacientes con DT2 mostraron índices bajos de HOMA-Beta y niveles relativamente altos de péptido C. Tanto HOMA-Beta como péptido C se utilizan ampliamente como métodos indirectos para evaluar la función de las células β pancreáticas (Reaven 2009, Leighton y cols. 2017). HOMA-Beta proporciona información fisiopatológica precisa sobre los cambios en la función secretora de insulina que ocurren con el tiempo en pacientes con DT2 (Reaven 2009) y los cambios en las concentraciones del péptido C en ayuno se correlacionan con el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en la DT2. Además, se propone que el péptido C puede proporcionar una evaluación precisa de las reservas de células β pancreáticas (los valores < 2.0 ng/ml son indicativos de reserva límite), ya que el péptido C se secreta en cantidades equimolares con insulina de las células β pancreáticas y se elimina en la circulación a una velocidad constante, mientras que la insulina se elimina de forma variable (vida media de 20 a 30 minutos, en comparación con la vida media de la insulina de solo 3-5 minutos) (Leighton y cols. 2017).

Se ha demostrado que la inflamación sistémica de bajo grado activa las células inmunes circulantes en enfermedades metabólicas. La DT2 se considera una enfermedad metabólica pro-inflamatoria (Domingueti y cols. 2016) que se asocia con una mayor producción de citocinas, incluido el sTNF, IL-6 y MCP-1 (Locksley y cols. 2001, Alexandraki y cols. 2008), marcadores que fueron evaluados en nuestra cohorte, y como observamos, los niveles de sTNF, IL-6 y MCP-1 fueron más altos en nuestros pacientes DT2 al compararlos con los SR. El aumento de sTNF regula la señalización de la insulina, aumenta la resistencia a la insulina y la homeostasis de la glucosa (Borst 2004). Existe evidencia de que la glucosa en monocitos humanos in vitro puede estimular la secreción de sTNF (Gonzalez y cols. 2012). Además, se ha informado que el incremento agudo de glucosa en humanos se asocia con un aumento de los niveles séricos de sTNF (Esposito y cols. 2002).

El sTNFR1 se ha asociado con un control glucémico deficiente y el riesgo de complicaciones microvasculares en la diabetes tipo 1 (El-Samahy y cols. 2015). Los niveles de sTNFR1 se asociaron con la pérdida de la función renal en pacientes con DT2 (Gómez-Banoy y cols. 2016). Contrariamente a estos resultados, observamos que los niveles de sTNFR1 en nuestros pacientes con DT2 no mostraron ninguna relación con los parámetros de evaluación glucémica y hasta donde sabemos, no existen informes sobre los efectos de la glucosa en sTNFR2. En nuestros pacientes DT2 con descontrol glucémico observamos niveles más altos de sTNFR2 y sTNF en comparación con los pacientes con DT2 con control glucémico. El sTNF se asoció solo con los niveles de HbA1c, mientras que el sTNFR2 se correlacionó con la GA, HbA1c y HOMA-Beta. Juntos, estos hallazgos sugieren la presencia de un mecanismo de retroalimentación con descontrol glucémico e inflamación que afecta el sistema TNF, creando un círculo vicioso donde los niveles elevados de glucosa circulante pueden estimular la liberación de sTNFR2 y sTNF y otras citocinas por las células inmunes y endoteliales, que a su vez alteran la señalización de la insulina, reducen la captación de glucosa y aumentan aún más los niveles de glucosa circulante.

Los análisis comparativos basados en el género de nuestros pacientes con DT2 no mostraron diferencias en los parámetros antropométricos y metabólicos, sTNF y sTNFR1. Sin embargo, observamos que las mujeres con DT2 tenían niveles plasmáticos de sTNFR2

35.0% más altos en comparación con los hombres con DT2. Los niveles de sTNFR2 se asociaron con parámetros de evaluación glucémica (GA, HbA1c, insulina y HOMA-Beta). Se desconocen los mecanismos precisos que explican el dimorfismo sexual con respecto a los niveles de sTNFR2 en nuestra cohorte. De acuerdo con nuestros hallazgos, se han reportado niveles aumentados de sTNFR2 en mujeres con DT2, que se asociaron con niveles más altos de HbA1c y un mayor riesgo de enfermedad coronaria que era independiente de la hiperglucemia. Sin embargo, no se informaron medidas de los niveles de sTNF y TNFR1 en este estudio y la cohorte no incluyó datos en hombres (Shai y cols. 2005).

La creciente evidencia implica al sTNFR2 con la fisiopatología de muchas enfermedades inflamatorias que incluyen artritis reumatoide, tumorigénesis, aterosclerosis, lupus eritematoso sistémico y complicaciones de la diabetes (Carlsson y cols. 2016, Sheng y cols. 2018). El sTNFR2 juega un papel importante en múltiples aspectos de la fisiopatología de estas enfermedades, incluida la proliferación de células tumorales, la evasión de la vigilancia inmunitaria, la activación de células endoteliales y la angiogénesis (Sheng y cols. 2018, Medler y Wajant 2019).

Se ha demostrado que sTNFR2 es una proteína muy estable y su cuantificación es fácil de realizar con alta reproducibilidad y sensibilidad (Safranow y cols. 2009, Matić-Petrović y cols. 2016). Por tanto, el sTNFR2 puede ser un biomarcador potencial no invasivo de la activación del sistema TNF y de ECV en la DT2, especialmente entre las mujeres diabéticas con descontrol glucémico. Claramente, se necesitan más estudios para caracterizar estas asociaciones y determinar por qué las medidas de control de la glucosa no se asocian con los niveles de sTNFR1. En consecuencia, tanto el aumento de la respuesta inflamatoria como el manejo desordenado de la glucosa, las diferencias de género observadas y el exceso de riesgo cardiovascular en mujeres con DT2, pueden contribuir a la activación del sistema TNF.

El papel del TNFR2 en la señalización de TNF en el endotelio es desconocido. Pero se sabe que las células endoteliales sometidas a altas concentraciones de glucosa, responden liberando mediadores inflamatorios como la IL-6 y PCR (Nagy y cols. 1991, Sampson y cols. 2003). Lo que corresponde con los hallazgos en nuestros pacientes DT2, en quienes

observamos niveles incrementados de la hsCRP, IL-6 y MCP-1. Así mismo, se ha reportado que la respuesta proinflamatoria a largo plazo del TNF se lleva a cabo a través de la expresión de genes de respuesta inducida por TNF, los cuales regulan funciones endoteliales, como la adhesión leucocitaria, vía expresión de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y selectinas (Madge y Pober 2001) que resulta ser una respuesta clave en la iniciación de la fase temprana aterosclerótica (Price y Loscalzo 1999). Coincidentemente en nuestros pacientes DT2 con riesgo cardiovascular alto (> 20.0%) solo el sTNFR2 estuvo asociado a los niveles circulantes de los indicadores inflamatorios y de función endotelial (IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1), mientras que sTNF y sTNFR1 no presentaron asociación.

Se ha demostrado que la hiperglucemia en pacientes con DT2 induce estrés oxidativo (Esposito y cols. 2002) contribuyendo al proceso de disfunción endotelial, al estimular la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), que son proteínas y lípidos glicosados que se asocian con la mortalidad relacionada con enfermedad cerebro vascular en mujeres pero no en hombres (Kilhovd y cols. 2007). Los informes muestran que la prevalencia, la progresión y la fisiopatología de las complicaciones vasculares de la DT2 también difieren según el género (Maric-Bilkan 2017). Las mujeres con DT2, en comparación con los hombres con DT2, tienen un riesgo excesivo de EVC (Recarti y cols. 2015) y tasas de mortalidad significativamente más altas que las observadas en los hombres por infarto de miocardio, enfermedad coronaria, síndrome metabólico y accidente cerebrovascular (Kautzky-Willer y cols. 2016). Así mismo, en mujeres con historia de diabetes gestacional muestran niveles incrementados de los marcadores endoteliales VCAM-1 e ICAM-1 y que pueden ser un indicador temprano de futuros trastornos cardiometabólicos (Siddiqui y cols. 2019).

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. Este es un estudio transversal de una cohorte de sujetos del estado de Puebla en el centro de México y como tal, no representa una muestra aleatoria de la población nacional y general, además de que, por el tipo de estudio, no proporciona una relación de causa y efecto, no se midieron los niveles de hormonas sexuales en nuestra cohorte, ni establecimos el estado del ciclo menstrual en la extracción de sangre. No obstante, nuestros datos brindan información única sobre asociaciones importantes y

novedosas entre las medidas de evaluación glucémica, marcadores inflamatorios, de función endotelial y el sistema TNF en la DT2. Es importante señalar que en México, la prevalencia total de DT2 en mujeres es mayor que en los hombres (aproximadamente 11.4% en mujeres y 9.1% en hombres) (ENSA 2018) y se observa un control glucémico desordenado en 68.2% de los pacientes con DT2 (ENSA 2018), dicho descontrol glucémico se asocia con un pronóstico mucho peor que el observado en otros países (Alegre-Díaz y cols. 2016).

Nuestros hallazgos sobre el aumento de los niveles de sTNFR2 en mujeres pueden representar un nuevo biomarcador de aumento de las respuestas inflamatorias y alteraciones endoteliales prematuras y por tanto del riesgo de ECV en pacientes DT2 y en especial en mujeres diabéticas. Estos resultados son importantes ya que existe un creciente reconocimiento de que la ECV en mujeres con DT2 es más agresiva y tiene un peor pronóstico. La enfermedad coronaria y los infartos de miocardio tienden a ser más mortales en las mujeres que en los hombres (Regensteiner y cols. 2015). Por lo tanto, los estudios para caracterizar los mecanismos precisos responsables de estas diferencias biológicas de sexo merecen una mayor investigación, ya que las diferencias de sexo en la farmacoterapia y el aumento de los factores de riesgo cardiovascular pueden no ser las únicas causas del exceso de riesgo cardiovascular observado en las mujeres con DT2 (Recarti y cols. 2015).

9. Conclusiones

Como conclusiones parciales podemos resumir los siguientes:

1. En pacientes DT2, el aumento crónico de glucosa induce el proceso inflamatorio, incrementando los niveles del plasmáticos de sTNFR2.
2. El descontrol glucémico está asociado con un aumento de los niveles de sTNFR2 y sTNF circulantes, pero no de sTNFR1.
3. En los pacientes DT2, el aumento de los niveles plasmáticos de sTNFR2 está asociado con los indicadores de inflamación hsCRP, IL-6 y MCP-1.
4. En los pacientes DT2, el incremento de los niveles plasmáticos de sTNFR2 está asociado con los indicadores de función endotelial VCAM-1 e ICAM-1, pero no con NO.
5. Los niveles plasmáticos de sTNFR2 son más altos en mujeres DT2 que en hombres DT2.
6. Las mujeres DT2 presentan niveles incrementados del marcador inflamatorio IL-6 comparados con los hombres DT2.
7. En mujeres DT2 niveles incrementados del sTNFR2 estuvieron asociados con los niveles más altos de VCAM-1.

Nuestros datos apoyan la afirmación de que el descontrol glucémico está asociado con un aumento de los niveles plasmáticos de sTNFR2 y sTNF, pero no de sTNFR1 y los niveles de sTNFR2 son más altos en mujeres DT2 que en hombres DT2. En mujeres DT2, sTNFR2, IL-6 y VCAM-1 están asociados al riesgo cardiovascular. Por tanto, el aumento de los niveles de sTNFR2 puede ser un biomarcador importante para la fisiopatología de la diabetes tipo 2 y un indicador temprano de la presencia de daño cardiovascular en mujeres y hombres DT2.

10. Perspectivas

El presente trabajo es un estudio transversal de una cohorte del estado de Puebla, México que no representa una muestra aleatoria de la población general, por lo que se propone ampliar aleatoriamente la muestra, considerando sujetos de diferentes áreas del estado de Puebla o áreas geográficas diferentes a la zona centro del país (zonas norte y sur).

Como nuestros resultados apoyan la hipótesis de que el descontrol glucémico (hiperglucemia) está asociado con un aumento de los niveles plasmáticos de sTNFR2 y sTNF, pero no de sTNFR1, con niveles de sTNFR2 más altos en mujeres DT2 que en hombres DT2, se propone un estudio en mujeres con y sin DT2 que incluya un mayor número de participantes, con una caracterización más específica a las mujeres, como por ejemplo, la medición de los niveles de hormonas sexuales y estado del ciclo menstrual, estados pre o menopaúsicos, etc.

En nuestro estudio, las mujeres DT2, el sTNFR2, estuvo asociado al riesgo cardiovascular. Por tanto, un estudio que permita establecer un mecanismo de como el sTNFR2 puede estar asociado con el daño cardiovascular en mujeres y hombres DT2, sería de suma importancia, para evitar el desarrollo prematuro de las complicaciones vasculares de la DT2.

El trabajo al ser un estudio retrospectivo, no puede proporcionar una relación de causa y efecto, así que se plantea la opción de un estudio que permita evaluar el efecto de la hiperglucemia en la inducción del proceso inflamatorio, evidenciado por el sistema TNF y en especial del sTNFR2 y la función endotelial en modelos animales, como de ratón diabético u obeso, o el uso de un modelo *in vitro*, usando alguna línea celular endotelial primaria o inmortalizada.

11. Referencias

ADA. 2021. Cardiovascular disease and risk management: standards of medical care in diabetes 2021. *Diabetes Care* 44(Supplement 1): S125-S150.

ADA. 2021. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes 2021. *Diabetes Care* 44(Supplement 1): S15-S33.

ADA. 2021. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes 2021. *Diabetes Care* 44(Supplement 1): S73-S84.

Aderka D., H. Engelmann, Y. Maor, C. Brakebusch and D. Wallach. 1992. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 175(2): 323-329.

Alegre-Díaz J., W. Herrington, M. López-Cervantes, L. Gnatiuc, R. Ramirez, M. Hill, C. Baigent, M. I. McCarthy, S. Lewington, R. Collins, G. Whitlock, R. Tapia-Conyer, R. Peto, P. Kuri-Morales and J. R. Emberson. 2016. Diabetes and cause-specific mortality in Mexico city. *N Engl J Med* 375(20): 1961-1971.

Alexandraki K. I., C. Piperi, P. D. Ziakas, N. V. Apostolopoulos, K. Makrilakis, V. Syriou, E. Diamanti-Kandarakis, G. Kaltsas and A. Kalofoutis. 2008. Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. *J Clin Immunol* 28(4): 314-321.

Alvarado M. M. R. and C. S. Roitz. 2012. El factor de necrosis tumoral- α , la resistencia a la insulina, el metabolismo de lipoproteínas y la obesidad en humanos. *Nutrición Hospitalaria* 27: 1751-1757.

Ashkenazi A. 2002. Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer* 2(6): 420-430.

Bakker W., E. C. Eringa, P. Sipkema and V. W. van Hinsbergh. 2009. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res* 335(1): 165-189.

Bakker W., E. C. Eringa, P. Sipkema and V. W. M. van Hinsbergh. 2008. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell and Tissue Research* 335(1): 165.

Baud V. and M. Karin. 2001. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol* 11(9): 372-377.

Black R. A., C. T. Rauch, C. J. Kozlosky, J. J. Peschon, J. L. Slack, M. F. Wolfson, B. J. Castner, K. L. Stocking, P. Reddy, S. Srinivasan, N. Nelson, N. Boiani, K. A. Schooley, M. Gerhart, R. Davis, J. N. Fitzner, R. S. Johnson, R. J. Paxton, C. J. March and D. P. Cerretti. 1997. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* 385(6618): 729-733.

Blann A. D. and C. N. McCollum. 1998. Increased levels of soluble tumor necrosis factor receptors in atherosclerosis: no clear relationship with levels of tumor necrosis factor. *Inflammation* 22(5): 483-491.

Borst S. E. 2004. The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine* 23(2-3): 177-182.

Brink R. and H. F. Lodish. 1998. Tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factor 2A (TRAF2A), a TRAF2 splice variant with an extended RING finger domain that inhibits TNFR2-mediated NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 273(7): 4129-4134.

Cardillo C., S. S. Nambi, C. M. Kilcoyne, W. K. Choucair, A. Katz, M. J. Quon and J. A. Panza. 1999. Insulin Stimulates Both Endothelin and Nitric Oxide Activity in the Human Forearm. *Circulation* 100(8): 820-825.

Carlsson A. C., C. J. Ostgren, F. H. Nystrom, T. Lanne, P. Jennersjo, A. Larsson and J. Arnlov. 2016. Association of soluble tumor necrosis factor receptors 1 and 2 with nephropathy, cardiovascular events, and total mortality in type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 15: 40.

Carpentier I., B. Coornaert and R. Beyaert. 2004. Function and regulation of tumor necrosis factor receptor type 2. *Curr Med Chem* 11(16): 2205-2212.

Carvajal C. C. 2017. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Med. leg. Costa Rica* 34.

Ceolotto G., A. Gallo, M. Miola, M. Sartori, R. Trevisan, S. Del Prato, A. Semplicini and A. Avogaro. 1999. Protein kinase C activity is acutely regulated by plasma glucose concentration in human monocytes in vivo. *Diabetes* 48(6): 1316-1322.

Dinarelo C. A. 2002. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol* 20(5 Suppl 27): S1-13.

Domingueti C. P., L. M. Dusse, M. Carvalho, L. P. de Sousa, K. B. Gomes and A. P. Fernandes. 2016. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *J Diabetes Complications* 30(4): 738-745.

Dzienis-Straczkowska S., M. Straczkowski, M. Szelachowska, A. Stepień, I. Kowalska and I. Kinalska. 2003. Soluble tumor necrosis factor-alpha receptors in young obese subjects with normal and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 26(3): 875-880.

Eissner G., W. Kolch and P. Scheurich. 2004. Ligands working as receptors: reverse signaling by members of the TNF superfamily enhance the plasticity of the immune system. *Cytokine Growth Factor Rev* 15(5): 353-366.

El-Samahy M. H., A. A. Adly, E. A. Ismail and N. Y. Salah. 2015. Regulatory T cells with CD62L or TNFR2 expression in young type 1 diabetic patients: relation to inflammation, glycemic control and micro-vascular complications. *J Diabetes Complications* 29(1): 120-126.

Emanuela F., M. Grazia, d. R. Marco, L. Maria Paola, F. Giorgio and B. Marco. 2012. Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. *J Nutr Metab* 2012: 476380.

ENSA. 2018. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Ciudad de Mexico: INEGI. Disponible en: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf.

Esposito K., F. Nappo, R. Marfella, G. Giugliano, F. Giugliano, M. Ciotola, L. Quagliaro, A. Ceriello and D. Giugliano. 2002. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 106(16): 2067-2072.

Fatehi-Hassanabad Z., C. B. Chan and B. L. Furman. 2010. Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *Eur J Pharmacol* 636(1-3): 8-17.

Fernández-Real J. M., A. Molina, M. Broch, W. Ricart, C. Gutiérrez, R. Casamitjana, J. Vendrell, J. Soler and J. M. Gómez-Sáez. 1999. Tumor necrosis factor system activity is

associated with insulin resistance and dyslipidemia in myotonic dystrophy. *Diabetes* 48(5): 1108-1112.

Förstermann U. 2008. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 5(6): 338-349.

Friedl J., M. Puhmann, D. L. Bartlett, S. K. Libutti, E. N. Turner, M. F. Gnant and H. R. Alexander. 2002. Induction of permeability across endothelial cell monolayers by tumor necrosis factor (TNF) occurs via a tissue factor-dependent mechanism: relationship between the procoagulant and permeability effects of TNF. *Blood* 100(4): 1334-1339.

Gao X., S. Belmadani, A. Picchi, X. Xu, B. J. Potter, N. Tewari-Singh, S. Capobianco, W. M. Chilian and C. Zhang. 2007. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in *Lepr(db)* mice. *Circulation* 115(2): 245-254.

Gao X., A. Picchi and C. Zhang. 2010. Upregulation of TNF-alpha and Receptors Contribute to Endothelial Dysfunction in Zucker Diabetic Rats. *Am J Biomed Sci* 2(1): 1-12.

Gerich J. E. 2003. Contributions of insulin-resistance and insulin-secretory defects to the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 78(4): 447-456.

Godo S. and H. Shimokawa. 2017. Endothelial Functions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 37(9): e108-e114.

Gómez-Banoy N., V. Cuevas, A. Higuera, L. H. Aranzález and I. Mockus. 2016. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is associated with diminished estimated glomerular filtration rate in colombian patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 30(5): 852-857.

Gonzalez Y., M. T. Herrera, G. Soldevila, L. Garcia-Garcia, G. Fabián, E. M. Pérez-Armendariz, K. Bobadilla, S. Guzmán-Beltrán, E. Sada and M. Torres. 2012. High glucose concentrations induce TNF- α production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes. *BMC Immunol* 13: 19.

Grell M., E. Douni, H. Wajant, M. Löhden, M. Clauss, B. Maxeiner, S. Georgopoulos, W. Lesslauer, G. Kollias, K. Pfizenmaier and P. Scheurich. 1995. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 83(5): 793-802.

Hadi H. A. and J. A. Suwaidi. 2007. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vasc Health Risk Manag* 3(6): 853-876.

Halberg N., I. Wernstedt-Asterholm and P. E. Scherer. 2008. The adipocyte as an endocrine cell. *Endocrinol Metab Clin North Am* 37(3): 753-768, x-xi.

Hauner H., M. Bender, B. Haastert and F. Hube. 1998. Plasma concentrations of soluble TNF-alpha receptors in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22(12): 1239-1243.

Higuchi Y., C. F. McTiernan, C. B. Frye, B. S. McGowan, T. O. Chan and A. M. Feldman. 2004. Tumor necrosis factor receptors 1 and 2 differentially regulate survival, cardiac dysfunction, and remodeling in transgenic mice with tumor necrosis factor-alpha-induced cardiomyopathy. *Circulation* 109(15): 1892-1897.

Horiuchi T., H. Mitoma, S. Harashima, H. Tsukamoto and T. Shimoda. 2010. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)* 49(7): 1215-1228.

IMSS. 2018. Diagnóstico y tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. Guía de evidencias y recomendaciones: guía de práctica clínica. México, Instituto Mexicano del Seguro Social. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/718GER.pdf>.

IMSS. 2018. Diagnóstico y Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, Instituto Mexicano del Seguro Social. Disponible en: <http://imss.gob.mx/profesionales-salud/gpc>.

IMSS. 2019. Informe al Ejecutivo Federal y al Congreso de la Unión sobre la situación financiera y los riesgos del Instituto Mexicano del Seguro Social 2018-2019. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/pdf/informes/20182019/21-InformeCompleto.pdf>.

Kahn S. E. 2001. Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86(9): 4047-4058.

Kautzky-Willer A., J. Harreiter and G. Pacini. 2016. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev* 37(3): 278-316.

Kershaw E. E. and J. S. Flier. 2004. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89(6): 2548-2556.

Kilhovd B. K., A. Juutilainen, S. Lehto, T. Rönnemaa, P. A. Torjesen, K. F. Hanssen and M. Laakso. 2007. Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia* 50(7): 1409-1417.

Leahy J. L. 2005. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 36(3): 197-209.

Leighton E., C. A. Sainsbury and G. C. Jones. 2017. A Practical Review of C-Peptide Testing in Diabetes. *Diabetes Ther* 8(3): 475-487.

Li Y., W. Xu, Z. Liao, B. Yao, X. Chen, Z. Huang, G. Hu and J. Weng. 2004. Induction of long-term glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients is associated with improvement of beta-cell function. *Diabetes Care* 27(11): 2597-2602.

Locksley R. M., N. Killeen and M. J. Lenardo. 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 104(4): 487-501.

Luo Y., Z. Xu, T. Wan, Y. He, D. Jones, H. Zhang and W. Min. 2010. Endothelial-specific transgenesis of TNFR2 promotes adaptive arteriogenesis and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30(7): 1307-1314.

Lyssenko V. and M. Laakso. 2013. Genetic Screening for the Risk of Type 2 Diabetes. Worthless or valuable? *36(Supplement 2): S120-S126.*

Madge L. A. and J. S. Pober. 2001. TNF signaling in vascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol* 70(3): 317-325.

Marchetti L., M. Klein, K. Schlett, K. Pfizenmaier and U. L. Eisel. 2004. Tumor necrosis factor (TNF)-mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by N-methyl-D-aspartate receptor activation. Essential role of a TNF receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent NF-kappa B pathway. *J Biol Chem* 279(31): 32869-32881.

Maric-Bilkan C. 2017. Sex differences in micro- and macro-vascular complications of diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)* 131(9): 833-846.

Matić-Petrović S., A. Pucar, A. Jotić, B. Miličić, J. Arambašić-Jovanović, M. Vidaković and V. Leković. 2016. Relationship between serum tumor necrosis factor

receptor-2 concentration and periodontal destruction in patients with type 2 diabetes: Cross-sectional study. *Srp Arh Celok Lek* 144(5-6): 266-272.

Medler J. and H. Wajant. 2019. Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): an overview of an emerging drug target. *Expert Opin Ther Targets* 23(4): 295-307.

Meldrum D. R. 1998. Tumor necrosis factor in the heart. *Am J Physiol* 274(3 Pt 2): R577-595.

Mohammed F. F., D. S. Smookler, S. E. Taylor, B. Fingleton, Z. Kassiri, O. H. Sanchez, J. L. English, L. M. Matrisian, B. Au, W. C. Yeh and R. Khokha. 2004. Abnormal TNF activity in *Timp3*^{-/-} mice leads to chronic hepatic inflammation and failure of liver regeneration. *Nat Genet* 36(9): 969-977.

Monden Y., T. Kubota, T. Inoue, T. Tsutsumi, S. Kawano, T. Ide, H. Tsutsui and K. Sunagawa. 2007. Tumor necrosis factor-alpha is toxic via receptor 1 and protective via receptor 2 in a murine model of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293(1): H743-753.

Nagy K., J. Levy and G. Grunberger. 1991. Impaired translocation of protein kinase C activity in human non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 40(8): 807-813.

OMS. 2016. Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre la diabetes 2016. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf?sequence=1>.

Oviedo-Mota M. A., F. Espinosa-Larrañaga, H. Reyes-Morales, J. A. Trejo-Pérez and E. Gil-Velázquez. 2003. Guía clínica para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med IMSS* 41 (Supl): S27-S46

Palacios A., M. Durán and O. Obregón. 2012. Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 y síndrome metabólico. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* 10: 34-40.

París J. V. 2006. Función endotelial. *Arch Cardiol Mex* 76: 164-169.

Picchi A., X. Gao, S. Belmadani, B. J. Potter, M. Focardi, W. M. Chilian and C. Zhang. 2006. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res* 99(1): 69-77.

Price D. T. and J. Loscalzo. 1999. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 107(1): 85-97.

Qu H. Q., Q. Li, A. R. Rentfro, S. P. Fisher-Hoch and J. B. McCormick. 2011. The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One* 6(6): e21041.

Reaven G. M. 2009. HOMA-beta in the UKPDS and ADOPT. Is the natural history of type 2 diabetes characterised by a progressive and inexorable loss of insulin secretory function? Maybe? Maybe not? *Diab Vasc Dis Res* 6(2): 133-138.

Recarti C., S. J. Sep, C. D. Stehouwer and T. Unger. 2015. Excess cardiovascular risk in diabetic women: a case for intensive treatment. *Curr Hypertens Rep* 17(6): 554.

Regensteiner J. G., S. Golden, A. G. Huebschmann, E. Barrett-Connor, A. Y. Chang, D. Chyun, C. S. Fox, C. Kim, N. Mehta, J. F. Reckelhoff, J. E. Reusch, K. M. Rexrode, A. E. Sumner, F. K. Welty, N. K. Wenger, B. Anton, L. American Heart Association Diabetes Committee of the Council on, C. o. E. Cardiometabolic Health, C. o. F. G. Prevention, B. Translational and H. Council on. 2015. Sex Differences in the Cardiovascular Consequences of Diabetes Mellitus: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 132(25): 2424-2447.

Ridker P. M., N. Rifai, M. Pfeffer, F. Sacks, S. Lepage and E. Braunwald. 2000. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 101(18): 2149-2153.

Safranow K., V. Dziedziejko, R. Rzeuski, E. Czyzycka, A. Wojtarowicz, A. Binczak-Kuleta, K. Jakubowska, M. Olszewska, A. Ciechanowicz, Z. Kornacewicz-Jach, B. Machalinski, A. Pawlik and D. Chlubek. 2009. Plasma concentrations of TNF-alpha and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens* 74(5): 386-392.

Sampson M. J., I. R. Davies, S. Braschi, K. Ivory and D. A. Hughes. 2003. Increased expression of a scavenger receptor (CD36) in monocytes from subjects with Type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 167(1): 129-134.

Santee S. M. and L. B. Owen-Schaub. 1996. Human tumor necrosis factor receptor p75/80 (CD120b) gene structure and promoter characterization. *J Biol Chem* 271(35): 21151-21159.

Schalkwijk C. G. and C. D. Stehouwer. 2005. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 109(2): 143-159.

Schnabel R. B., X. Yin, M. G. Larson, J. F. Yamamoto, J. D. Fontes, S. Kathiresan, J. Rong, D. Levy, J. F. Keaney, T. J. Wang, J. M. Murabito, R. S. Vasani and E. J. Benjamin. 2013. Multiple inflammatory biomarkers in relation to cardiovascular events and mortality in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33(7): 1728-1733.

Seidel M., H. Billert and M. Kurpisz. 2006. Regulation of eNOS expression in HCAEC cell line treated with opioids and proinflammatory cytokines. *Kardiol Pol* 64(2): 153-158; discussion 159-160.

Shai I., M. B. Schulze, J. E. Manson, K. M. Rexrode, M. J. Stampfer, C. Mantzoros and F. B. Hu. 2005. A prospective study of soluble tumor necrosis factor- α receptor II (sTNF-RII) and risk of coronary heart disease among women with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 28(6): 1376-1382.

Shamah-Levy T., E. Vielma-Orozco, O. Heredia-Hernández, Martín Romero-Martínez, J. Mojica-Cuevas, L. Cuevas-Nasu and J. Rivera-Dommarco. 2020. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. México. Instituto Nacional de Salud Pública. 2020. Available from: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_informe_final.pdf.

Sheng Y., F. Li and Z. Qin. 2018. TNF Receptor 2 Makes Tumor Necrosis Factor a Friend of Tumors. *Front Immunol* 9: 1170.

Siddiqui K., T. P. George, S. S. Nawaz and S. S. Joy. 2019. VCAM-1, ICAM-1 and selectins in gestational diabetes mellitus and the risk for vascular disorders. *Future Cardiol* 15(5): 339-346.

Sitia S., L. Tomasoni, F. Atzeni, G. Ambrosio, C. Cordiano, A. Catapano, S. Tramontana, F. Perticone, P. Naccarato, P. Camici, E. Picano, L. Cortigiani, M. Bevilacqua,

L. Milazzo, D. Cusi, C. Barlassina, P. Sarzi-Puttini and M. Turiel. 2010. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev* 9(12): 830-834.

Speeckaert M. M., R. Speeckaert, M. Laute, R. Vanholder and J. R. Delanghe. 2012. Tumor necrosis factor receptors: biology and therapeutic potential in kidney diseases. *Am J Nephrol* 36(3): 261-270.

Strackowski M., I. Kowalska, A. Nikolajuk, A. Adamska, M. Karolczuk-Zarachowicz, M. Karczewska-Kupczewska, A. Kozłowska and M. Gorska. 2006. Plasma levels of soluble tumor necrosis factor-alpha receptors are related to total and LDL-cholesterol in lean, but not in obese subjects. *Cardiovasc Diabetol* 5: 14.

Strackowski M., P. Lewczuk, S. Dzienis-Strackowska, I. Kowalska, A. Stepien and I. Kinalska. 2002. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in obesity: relationship to insulin resistance and tumor necrosis factor-alpha system activity. *Metabolism* 51(1): 75-78.

UKPDS. 1998. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet* 352(9131): 837-853.

Van Zee K. J., T. Kohno, E. Fischer, C. S. Rock, L. L. Moldawer and S. F. Lowry. 1992. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(11): 4845-4849.

Vendrell J., M. Broch, J. M. Fernandez-Real, C. Gutiérrez, I. Simón, A. Megia, L. Gallart, W. Ricart and C. Richart. 2005. Tumour necrosis factor receptors (TNFRs) in Type 2 diabetes. Analysis of soluble plasma fractions and genetic variations of TNFR2 gene in a case-control study. *Diabet Med* 22(4): 387-392.

Vinay D. S. and B. S. Kwon. 2009. TNF superfamily: costimulation and clinical applications. *Cell Biol Int* 33(4): 453-465.

Wallace T. M. and D. R. Matthews. 2002. The assessment of insulin resistance in man. *Diabet Med* 19(7): 527-534.

Wang M., P. R. Crisostomo, T. A. Markel, Y. Wang and D. R. Meldrum. 2008. Mechanisms of sex differences in TNFR2-mediated cardioprotection. *Circulation* 118(14 Suppl): S38-45.

WHO. 2020. World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheet April 2020. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.

Widlansky M. E., N. Gokce, J. F. Keaney and J. A. Vita. 2003. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42(7): 1149-1160.

Wu Y. and B. P. Zhou. 2010. TNF-alpha/NF-kappaB/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *Br J Cancer* 102(4): 639-644.

Yang G., R. Lucas, R. Caldwell, L. Yao, M. J. Romero and R. W. Caldwell. 2010. Novel mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *J Cardiovasc Dis Res* 1(2): 59-63.

Yoshizumi M., M. A. Perrella, J. C. Burnett, Jr. and M. E. Lee. 1993. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 73(1): 205-209.

Zhang H., Y. Park, J. Wu, X. Chen, S. Lee, J. Yang, K. C. Dellsperger and C. Zhang. 2009. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 116(3): 219-230.

Zhang Y., A. O. Y. Luk, E. Chow, G. T. C. Ko, M. H. M. Chan, M. Ng, A. P. S. Kong, R. C. W. Ma, R. Ozaki, W. Y. So, C. C. Chow and J. C. N. Chan. 2017. High risk of conversion to diabetes in first-degree relatives of individuals with young-onset type 2 diabetes: a 12-year follow-up analysis. *Diabet Med* 34(12): 1701-1709.

Zheng Y., S. H. Ley and F. B. Hu. 2018. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol* 14(2): 88-98.

Zhou Z., M. C. Connell and D. J. MacEwan. 2007. TNFR1-induced NF-kappaB, but not ERK, p38MAPK or JNK activation, mediates TNF-induced ICAM-1 and VCAM-1 expression on endothelial cells. *Cell Signal* 19(6): 1238-1248.

12. Anexos

12.1 Carta consentimiento informado.

		INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD			
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN					
Nombre del estudio:	Papel del receptor 2 de TNFα (TNFR2) en el desarrollo de disfunción endotelial asociada a hiperglucemia				
Lugar y fecha:	Puebla, Pue. a _____ de _____ de 20____.				
Número de registro:	R-2015-2102-92.				
Procedimientos:	Toma de muestra sanguínea, evaluación clínica, antropométrica y metabólica.				
Posibles riesgos y molestias:	Los posibles riesgos o molestias de este estudio son asociados a la necesidad de obtener muestras sanguíneas. Las punciones venosas pueden causar incomodidad local y posiblemente moretones. La extracción puede condicionar vértigo o mareo, que disminuye al elevar las piernas y bajar la cabeza.				
	Otra incomodidad para los sujetos podría ser la necesidad de recolectar la orina por 24 horas, se sensibilizará y se proporcionará el material para su colección adecuada.				
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Los beneficios por la participación en el estudio estarán en el orden de la detección temprana y oportuna de presión arterial elevada o descompensación de la diabetes, encaminando al paciente para un manejo adecuado por su médico tratante.				
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Se informará sobre su estado clínico y metabólico y se participará de la información al médico tratante.				
Participación o retiro:	La participación en este estudio es voluntaria, puede abandonar o terminar este estudio en cualquier momento, y si decide hacerlo, esto no tendrá ninguna afectación en sus consultas médicas actuales o futuras en los servicios que ofrece la UMF 2, IMSS.				
Privacidad y confidencialidad:	Los resultados de la evaluación realizada en este estudio serán proporcionados una semana después de extraída la muestra de sangre. Algunas determinaciones serán realizadas posteriormente y sus resultados serán mantenidos en archivos confidenciales de los investigadores principales.				
En caso de colección de material biológico (si aplica):	<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> </td> <td> No autoriza que se tome la muestra. Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros. </td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra. Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	No autoriza que se tome la muestra. Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.				
En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:	Investigador Responsable: <u>D.C. Ricardo Pérez Fuentes rycardoperez@hotmail.com, 2221945758</u>				
Colaborador:	<u>M. en C. Patricia Pulido Pérez patricia_pulido@hotmail.com 5560 25 3989</u>				
En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congressos, Colonia Doctores, México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx					
_____ Nombre y firma del sujeto		_____ Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento			
_____ Testigo 1		_____ Testigo 2			
_____ Nombre y firma		_____ Nombre y firma			
Clave: 2810-009-013					

2.2 Encuesta para caracterización antropométrica.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ORIENTE
LABORATORIO DE FISIOPATOLOGÍA DE ENFERMEDADES CRÓNICAS

ENCUESTA PARA CARACTERIZACIÓN ANTROPOMÉTRICA

Encuestador: _____ Fecha: _____ Clave: _____

I. DATOS GENERALES

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: (M) (F)
Domicilio: _____ No. afiliación: _____

II. DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Parámetro	Medición	Cálculo
Estatura		
Peso actual		
Perímetro de cintura		
IMC		
% de grasa corporal		

Observaciones: _____

12.3 Encuesta de caracterización clínica.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ORIENTE
LABORATORIO DE FISIOPATOLOGÍA DE ENFERMEDADES CRÓNICAS**

INSTRUMENTO PARA CARACTERIZACIÓN CLÍNICA

FOLIO: _____

Encuestador: _____ **Fecha:** _____

Fecha de realización: _____ **Fecha de captura:** _____

DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS

Apellido paterno	Apellido Materno	Nombre (s)
Domicilio: Calle _____ Número _____		
Colonia: _____		Ciudad: _____
Municipio: _____	Estado: _____	
Teléfono: _____	Celular: _____	
Ocupación _____		
UMF/HR de adscripción: _____	Consultorio: _____	Turno: _____
No. Afiliación: _____	CURP: _____	

ESTILO DE VIDA

Tabaquismo: Si () No () ; Pasado () Actual () ; Pasivo () Activo () ; Años de tabaquismo: _____ ;
 Edad de inicio: _____ ; N. cigarros/día: _____

Alcoholismo: Pasado () Actual () ; Edad de inicio de ingesta: _____ ; años de ingesta: _____ ;
 Tipo de bebida: _____ Cantidad (litros): _____ N. copas/semana: _____

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

Antecedentes Patológicos: _____ Fecha de diagnóstico clínico: _____
 Detección: () Cuadro clínico: () Fecha de inicio de síntomas: _____ Tratamiento: _____

ANTECEDENTES HEREDO FAMILIARES

	Sin Antecedentes	Hermanos	Padre	Madre	Abuelos Paternos	Abuelos Maternos
Diabetes						
Hipertensión						
Obesidad						
E. Cardiovascular						
E. Cerebrovascular						



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ORIENTE
LABORATORIO DE FISIOPATOLOGÍA DE ENFERMEDADES CRÓNICAS**

INTERROGATORIO DIRIGIDO

	Si	No	No Sabe	Especificar
Cardiovascular				
Respiratorio				
Gastrointestinal				
Endocrino				
Genitourinario				
M. Esquelético				
Neurológico				

PADECIMIENTO ACTUAL

Padece o padece de acantosis nigricans: Sí _____ No _____ No sabe _____
Tx: _____

Diagnóstico de DT2: _____ Edad de diagnóstico (años): _____ Años de evolución: _____

Método de detección de la diabetes: Cuadro clínico () GA () TOG ()

La madre cursó con diabetes gestacional: Sí _____ No _____ No sabe _____

Hospitalización a causa de la Diabetes: Sí () No () Causa: _____

Tratamiento que ha utilizado para la diabetes:

Tipo de Tx: Dietético () Farmacológico () Combinado ()

Glibenclámda (dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____

Acarbosa (dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____

Metformina (dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____

Tzd (dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____

Otro (cual, dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____

Insulina Si () No () Tipo: _____

Dosis: _____ Horario: _____ Tiempo de uso _____

Ejercicio: _____ Frecuencia: _____

Signo/Síntoma	Tuvo	Tiene	Inicio	Frecuencia	Comentarios
Polidipsia					
Poliuria					
Polifagia					
Pérdida de peso					
Aumento de peso					
Calambres					
Cansancio					
Ressequedad de boca					
Debilidad					
Otros					



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE ORIENTE
LABORATORIO DE FISIOPATOLOGÍA DE ENFERMEDADES CRÓNICAS**

Diagnosticado de HTA: Sí () No () No sabe () Evolución de la HAT (años): _____
 Tratamiento que ha utilizado para la hipertensión:
 Tipo de Tx: Dietético () Farmacológico () Combinado ()
 Medicamento 1(dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Medicamento 2(dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Medicamento 3 (dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Observaciones: _____

Diagnóstico de dislipemia : Sí () No () No sabe () Evolución de la dislipidemia(años): _____
 Tratamiento que ha utilizado para dislipidemias:
 Tipo de Tx: Dietético () Farmacológico () Combinado ()
 Medicamento 1(dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Medicamento 2(dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Medicamento 3(dosis): _____ Horario: _____ Tiempo de uso: _____
 Observaciones: _____

Otros medicamentos (Homeópatas, Naturistas, etc.) SI () NO () ¿Cuál? _____
 Tiempo de consumo: _____

Suplementos alimenticios: SI () NO () ¿Cuál? _____ Tiempo de consumo: _____

Vitaminas: SI () NO () ¿Cuál?: _____ Tiempo de consumo: _____

Pastillas para adelgazar: SI () NO () ¿Cuál? _____ Tiempo de consumo: _____

EXPLORACION FÍSICA

FC: _____ FR: _____ Temperatura: _____ Agudeza visual OD: _____ OI: _____
 Piel y faneras: (acantosis, hirsutismo, uñas, pelo): _____
 Tórax, abdomen, extremidades, genitales: _____
 Observaciones: _____

Pregunta	Respuesta
Primera lectura	Sistólica (mmHg) <input type="text"/>
	Diastólica (mmHg) <input type="text"/>
Segunda lectura	Sistólica (mmHg) <input type="text"/>
	Diastólica (mmHg) <input type="text"/>
Tercera lectura	Sistólica (mmHg) <input type="text"/>
	Diastólica (mmHg) <input type="text"/>
En las dos últimas semanas, ¿ha sido usted tratado de la hipertensión arterial con medicamentos (remedios) recetados por un médico u otro agente sanitario?	Sí 1
	No 2

12.4 Técnicas de caracterización antropométrica y metabólica

12.4.1 Estatura

La medición de la estatura requiere de un estadímetro. El sujeto debe de estar descalzo (sin calcetines ni zapatos), vistiendo una mínima cantidad de ropa (con el objeto de poder observar la posición del cuerpo), parado sobre una superficie firme y plana que forme un ángulo recto con la barra vertical del estadímetro, La cabeza debe de estar posicionada en el plano de Frankfurt horizontal, los brazos deberán colgar libremente a los lados del tronco con las palmas de las manos colocadas hacia la parte lateral externa del muslo. Los talones deben estar juntos tocando ambos la base de la barra vertical del estadímetro. Se le pide al sujeto que inhale profundamente y mantenga una posición erguida, se desliza la cabecera sobre el punto máximo superior de la cabeza, con la suficiente presión para comprimir el cabello. Registrar al 0.1 cm. más cercano, así como el horario en el cual se realiza.

12.4.2 Peso corporal

Se recomienda medir el peso corporal durante la mañana, en estado de ayuno y posterior a la evacuación de la vejiga urinaria. El sujeto debe de vestir una mínima cantidad de ropa. El peso se medirá con una báscula médica con escala de graduación de 0.1 Kg. El peso se registra a los 100 g. más cercanos. Hay variaciones diurnas en el peso corporal de hasta 2 Kg. en sujetos adultos. Por lo tanto, es necesario registrar el horario del día en el cual se realiza la medición. Además, debe investigarse la presencia de ascitis y/o edema, que pudieran ocultar cambios en el peso corporal.

12.4.3 Índice de masa corporal (IMC)

El índice de masa corporal (IMC) es un parámetro que establece la proporción de masa corporal por metro cuadrado y que se calcula según la fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg.)} / \text{Estatura (m}^2\text{)}$$

Se han establecido valores críticos que delimitan la “normalidad” de los valores que denotan “pesos bajos” o malnutrición y los “pesos altos. La normalidad queda definida entre los valores de 18.5 y 24.9 Kg/m²; por debajo de 18.5 Kg/m² estarían los “pesos bajos” clasificados en grados. Valores mayores a 25 Kg/m² en el IMC se clasifican como sobrepeso y obesidad para índices mayores a 30 Kg/m².

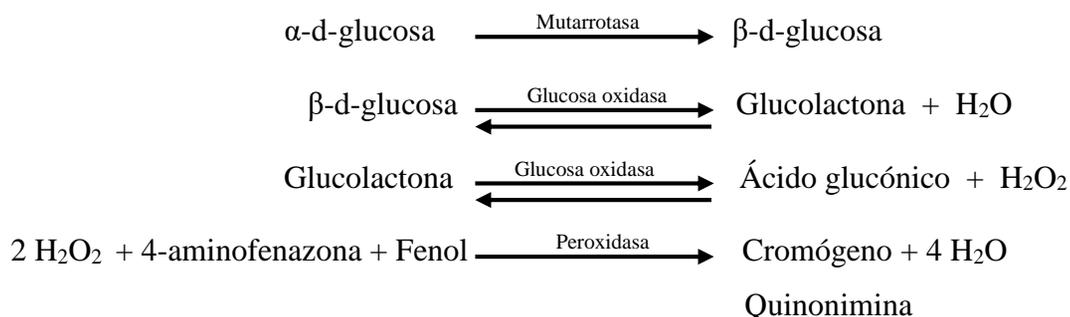
12.4.4 Cuantificación de glucosa de ayuno

Método: Glucosa oxidasa automatizado

Equipo: Analizador Beckman Synchron System

Reactivos: Estuche Beckman Synchron System

Fundamento del método: La glucosa es oxidada por la glucosa oxidasa, liberando peróxido de hidrógeno que reacciona con el fenol y aminofenazona en presencia de peroxidasa, dando un color rojo violeta de antipirilquinonimina en cantidad proporcional a la glucosa presente en la muestra.



Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en mg/dL.

Interferencias: Está prueba no se ve afectada por ictericia ni lipemia. La hemólisis interfiere en la determinación.

Intervalo de Medición: 0.200-1000 mg/dL (definido por el límite de detección y el máximo de la curva principal).

12.4.5 Cuantificación HbA1c

Método: Inmunoinhibición turbidimétrica

Equipo: Analizador automático SYNCHRON LX System.

Reactivos: Estuche de reactivos Hemoglobina A1c, SYNCHRON LX Chemistries.

Fundamento del método: El proceso de conversión de hemoglobina A en hemoglobina A1c depende de la concentración de glucosa en sangre, debido a que eritrocito tiene un tiempo de vida media de 60 días, las mediciones de HbA1c refleja las medias diarias de la concentración de glucosa en los dos meses anteriores a la determinación, suministrando un mejor indicador del control glucémico. El agente A1c es usado para medir la concentración de A1c por un método de inhibición turbidimétrica. Durante la reacción los anticuerpos A1c combinados con la hemoglobina A1c de la muestra forma un complejo soluble antígeno-anticuerpo. El polihapteno del reactivo reacciona con el exceso de anticuerpos formando un complejo aglutinado que es medido turbidimétricamente a 340 nm, el cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de HbA1c en la muestra.

Muestra: Sangre completa con EDTA.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración del analito de cada muestra y expresa la concentración como porcentaje de la concentración total de HbA1c.

12.4.6 Prueba de tolerancia oral a la glucosa

Método: Glucosa oxidasa automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: Este método se fundamentada en la respuesta fisiológica a incrementos de glucosa. Cuando se administra glucosa, ésta comienza a incrementarse en un periodo de 15 minutos desde el inicio de la comida, alcanzando un pico de 18-36 mg/dL sobre el estado de ayuno en un margen de 45 minutos que estimula la liberación de insulina y por lo tanto la disminución de las concentraciones séricas de glucosa por su ingreso celular.

En condiciones normales los niveles de glucosa deben volver a las concentraciones de ayuno después de 2 horas.

Técnica: La prueba de tolerancia se realiza después de 12 horas de ayuno, para lo cual es administrada una dosis de 75g de glucosa en un volumen de 100 mL de agua por vía oral. Se obtienen muestras sanguíneas para las determinaciones analíticas de glucosa sérica, según el método de glucosa oxidasa, antes de administrar el estímulo y a los 120 minutos.

Muestra: Suero.

Interferencias: Los resultados se ven afectados por la ictericia, lipemia y la hemólisis.

12.4.7 Cuantificación de la insulina plasmática de ayuno

Método: Electroquimioluminiscencia.

Equipo: Analizador automático Roche Elecsys Modular Analytics.

Reactivos: Estuche de reactivos Elecsys Insulin.

Fundamento del método: Consiste en la formación inicial de un complejo tipo sándwich donde la insulina de la muestra se une a un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-insulina (de ratón) y un anticuerpo monoclonal anti-insulina (ratón) marcado con quelato de rutenio, para después incorporar micropartículas recubiertas de estreptavidina y formar un nuevo complejo. El complejo formado se fija a la base sólida por la interacción entre biotina y estraptividina. La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador. Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración realizada en el sistema a partir de dos puntos y una curva principal incluida en el código de barras del producto.

Muestra: Plasma-EDTA.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en $\mu\text{U/mL}$ o pmol/L .

Interferencias: Los resultados no se ven afectados por ictericia (bilirrubina < 1539 μ U/mL o < 90 mg/dL), lipemia, ni biotina. La hemólisis interfiere con la prueba, ya que los eritrocitos liberan entonces las peptidasas que degradan a la insulina.

12.4.8 Cuantificación del péptido C

Método: Electroquimiolumiscencia.

Equipo: Human C-Peptide ELISA Kit (EZHCP-20K).

Reactivos: Estuche de reactivos Human C-Peptide ELISA Kit (EZHCP-20K).

Fundamento del método: Este ensayo está basado secuencialmente en: 1) captura del péptido C de las muestras por un anticuerpo monoclonal inmovilizado dentro de los pozos de una placa de microtitulación, 2) unión de un anticuerpo monoclonal biotinilado (HCP) para la captura de las moléculas de péptido C, 3) lavado de las moléculas no unidas: las procedentes de la muestra y los anticuerpos de detección libres, 4) conjugación de la enzima SA-HRP (Poly-HRP-Streptavidina) a los anticuerpos biotinados y 5) cuantificación del conjugado por medio del monitoreo de la actividad enzimático de la SA-HRP en presencia de los substratos de TMB (tetrametilbenzidina). La actividad enzimática es medida espectrofotométricamente por la absorbancia a 450nm sobre la producción del producto fotométrico.

Muestra: Plasma-EDTA.

Interferencias: La hemólisis interfiere con la prueba, ya que los eritrocitos liberan entonces las peptidasas que degradan al péptido C.

Intervalo de Medición: Los niveles más bajos de Péptido C que pueden ser detectados con este ensayo son de 0.2 ng/mL.

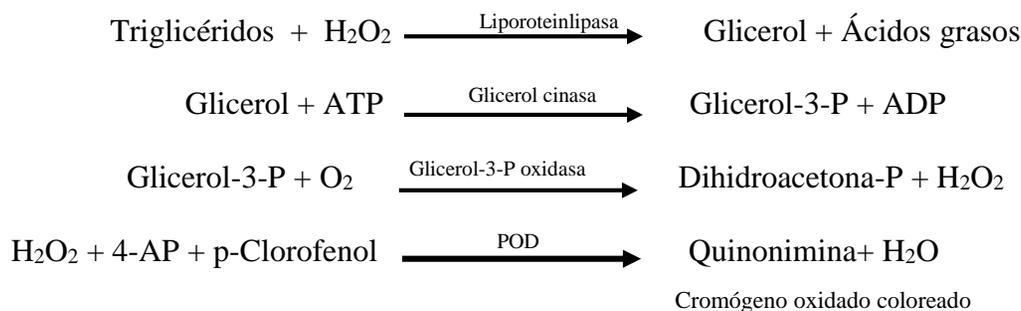
12.4.9 Cuantificación de triglicéridos séricos

Método: Colorimétrico automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: Los triglicéridos son enzimáticamente hidrolizados a glicerol y los ácidos grasos libres. El glicerol liberado reacciona con la glicerol-cinasa y la glicerol-3-fosfato (G-3-P) oxidasa para producir una dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno. La concentración de peróxido de hidrógeno por medio de la reacción de Trinder.



Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en mg/dL.

Interferencias: Esta prueba se ve afectada por la hemólisis, sustancias reductoras presentes en la muestra pueden dar resultados falsamente disminuidos.

12.4.10 Cuantificación de colesterol sérico

Método: Método enzimático colorimétrico automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: Los esteres de colesterol fueron hidrolizados a colesterol libre y ácidos grasos por acción de colesterol esterasa, este colesterol libre es oxidado por la enzima colesterol oxidasa con producción de colesteno y peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de peroxidasa oxida al cromógeno 4 AAP-fenol para producir un compuesto coloreado.

Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en mg/dL.

Interferencias: Esta prueba se ve afectada por la hemólisis.

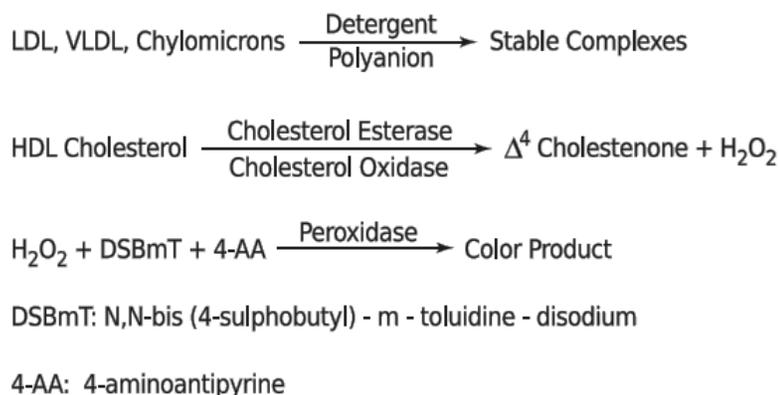
12.4.11 Cuantificación de HDL sérico

Método: Método enzimático colorimétrico automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: Este método directo de HDL es un ensayo homogéneo sin la necesidad de ningún pretratamiento o tratamiento fuera de línea. El método depende de un detergente único que solubiliza solo las partículas de lipoproteínas HDL y libera HDL para reaccionar con la colesterol esterasa y la colesterol oxidasa en presencia de cromógenos, para producir un producto de color. El mismo detergente también inhibe la reacción de las enzimas del colesterol con LDL, VLDL y lipoproteínas de quilomicrones por adsorción en sus superficies. Un polianión contenido en el reactivo mejora la selectividad para el ensayo de colesterol HDL mediante la complejación de lipoproteínas de LDL, VLDL y quilomicrones. El reactivo HDLD se utiliza para medir la concentración de colesterol mediante un método de punto final cronometrado. El sistema monitorea el cambio de absorbancia a 560 nanómetros. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de colesterol en la muestra y es utilizado por el sistema para calcular y expresar la concentración de colesterol HDL.



Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en mg/dL.

Interferencias: Esta prueba se ve afectada por la hemólisis.

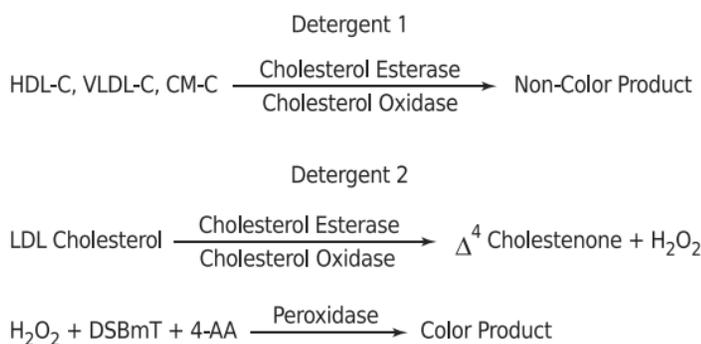
12.4.12 Cuantificación de LDL sérico

Método: Método enzimático colorimétrico automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: Este método directo de LDL es un ensayo homogéneo sin la necesidad de ningún pretratamiento o tratamiento fuera de línea. Pasos de centrifugación. El método depende de un detergente único que solubiliza solo la lipoproteína no LDL y libera colesterol para reaccionar con la colesterol esterasa y la colesterol oxidasa para producir una reacción no coloreada. Un segundo detergente solubiliza las partículas restantes de LDL y un acoplador cromogénico permite formación de color. El reactivo LDLD se utiliza para medir la concentración de colesterol mediante un método de punto final cronometrado. El sistema monitorea el cambio de absorbancia a 560 nanómetros. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de LDL en la muestra y es utilizado por el Sistema para calcular y expresar la concentración de colesterol LDL.



Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en mg/dL.

Interferencias: Esta prueba se ve afectada por la hemólisis.

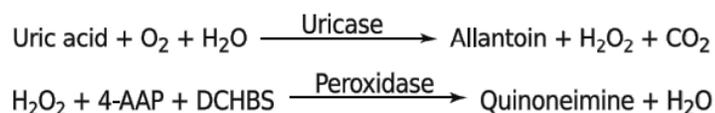
12.4.13 Cuantificación de ácido úrico

Método: Método enzimático colorimétrico automatizado.

Equipo: Analizador automático Beckman Synchron System.

Reactivos: Estuche de reactivos suministrados por el fabricante.

Fundamento del método: El reactivo URIC se utiliza para medir la concentración de ácido úrico mediante un método de punto final cronometrado. El ácido úrico es oxidado por uricasa para producir alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminoantipirina (4-AAP) y 3,5-dicloro-2-hidroxibencenosulfonato (DCHBS) en una reacción catalizada por peroxidasa para producir un producto coloreado. El sistema monitorea el cambio de absorbancia a 520 nanómetros. Este cambio en la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra y es utilizada por el sistema para calcular y expresar la concentración de ácido úrico.



Muestra: Suero.

Cálculo: El analizador calcula automáticamente la concentración en mg/dL.

Interferencias: Esta prueba se ve afectada por la lipemia y hemólisis.

12.4.14 Cálculo de HOMA-IR

Cálculo basado en la relación de glucemia y los niveles de insulina basal

$$\text{HOMA}_{\text{IR}} = \frac{\text{Insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa de ayuno (mg/dL)}}{22.5}$$

13.4.15 Cálculo de HOMA-Beta

$$\text{HOMA-Beta} = \frac{20 \times \text{Insulina de ayuno } (\mu\text{U/mL})}{\text{Glucosa de ayuno (mmol/L)} - 3.5}$$

12.5 Técnicas para las variables inflamatorias y de función endotelial

12.5.1 Factor de necrosis tumoral soluble (sTNF)

Compañía: PreproTech (número de catálogo: 900-K25).

Principio del test: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) que emplea un anticuerpo específico para TNF humano recubierto en una placa de 96 pocillos. Los estándares y las muestras se pipetea y el TNF presente en la muestra se une a los pocillos mediante el anticuerpo inmovilizado. Los pocillos se lavan y se añade anticuerpo anti-TNF humano biotinilado. Después se lava el anticuerpo biotinilado no unido, y se añade la estreptavidina conjugada con HRP. Los pocillos se lavan de nuevo, se añade una solución de sustrato TMB y el color se desarrolla en proporción a la cantidad de TNF unido. La solución de parada cambia el color de azul a amarillo y la intensidad del color se mide a 450 nm

Tipo de muestra: Plasma-EDTA.

Sensibilidad: < 1 pg/mL.

Rango de detección: 15.6 pg/mL- 1.000 pg/mL.

12.5.2 Receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1)

Compañía: PreProtech (número de catálogo: KAC1761).

Principio del test: El ELISA de fase sólida de TNFR1 humano, diseñado para medir la cantidad de TNFR1 unida entre un par de anticuerpos emparejados. Se ha recubierto previamente un anticuerpo específico de la TNFR1 en los pocillos de la microplaca suministrada. A continuación, se añaden muestras, estándares o controles a estos pocillos y se unen al anticuerpo inmovilizado (captura). El sándwich se forma mediante la adición del segundo anticuerpo (detector), se agrega una solución de sustrato que reacciona con el complejo enzima-anticuerpo-objetivo para producir una señal medible. La intensidad de esta señal es directamente proporcional a la concentración del TNFR1 presente en la muestra.

Tipo de muestra: Plasma-EDTA.

Sensibilidad: 50 pg/mL.

Rango de detección: 1-47 ng/mL.

12.5.3 Receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2)

Compañía: Quantikine (número de catálogo: DRT200).

Principio del test: ELISA en fase sólida. El ensayo contiene sTNFR2 humano recombinante expresado en *E. coli*, así como anticuerpos producidos contra este polipéptido. La proteína recombinante representa la forma de metionilo N-terminal no glicosilada del sTNFR2, menos 53 aminoácidos de la región rica en prolina de la proteína justo fuera del dominio transmembrana, con un peso molecular de aproximadamente 19.8 kDa. Se ha demostrado que este inmunoensayo cuantifica con precisión el sTNFR2 recombinante. La medición de sTNFR2 humano mediante este inmunoensayo es insensible al TNF-alfa o TNF-beta añadidos, es probable que esta medida corresponda a la cantidad total de receptor soluble presente en las muestras (es decir, la cantidad total de receptor libre más la cantidad total de receptor unido a TNF).

Tipo de muestra: Plasma-EDTA.

Sensibilidad: 2.3 pg/mL.

Rango de detección: 7.8 - 500 pg/mL.

12.5.4 Interleucina-6 (IL-6)

Compañía: Quantikine (número de catálogo: D6050).

Principio del test: Este ensayo emplea la técnica de ELISA sándwich cuantitativo. Se recubre previamente una microplaca con un anticuerpo monoclonal específico para IL-6. Los estándares y las muestras son pipeteado en los pocillos y cualquier IL-6 presente se une al anticuerpo inmovilizado. Después del lavado para eliminar cualquier sustancia no unida, se agrega un anticuerpo policlonal ligado a enzima específico para IL-6 a los pozos. Después de un lavado para eliminar cualquier reactivo de enzima-anticuerpo no unido, una solución de sustrato se agrega a los pocillos y el color se desarrolla en proporción a la cantidad de IL-6 unida en el paso inicial. Se detiene el desarrollo del color y se mide la intensidad del color.

Tipo de muestra: Plasma-EDTA.

Sensibilidad: 0.70 pg/mL.

Rango de detección: 3.1 - 300 pg/mL.

12.5.5 Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsPCR)

Compañía: Roche Cobas 6000 Chemistry Analyzer.

Principio del test: La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda, sintetizada en el hígado, involucrada en la activación del complemento, fagocitosis y la desintoxicación de sustancias liberadas de tejido dañado. Los niveles de CRP pueden aumentar dentro de las seis horas de un estímulo inflamatorio. La medición de las concentraciones de CRP por este método es altamente sensible y se realiza principalmente para determinar el riesgo de enfermedad cardiovascular en individuos que no tienen condiciones inflamatorias preexistentes. Este es un sistema inmunoturbidimétrico. La muestra se combina primero con un tampón Tris, luego se incuba. El segundo reactivo se añade (partículas de látex recubiertas con anticuerpos de ratón anti-CRP humana). En presencia de PCR circulante, las partículas se agregan en el látex, formando inmunocomplejos. Este complejo antígeno-anticuerpo provoca una disminución en luz transmitida, que se detecta espectrofotométricamente, siendo la magnitud del cambio proporcional a la concentración de CRP en la muestra. La turbidez se mide en una longitud de onda de 546 nm (longitud de onda secundaria 800 nm).

Tipo de muestra: Suero.

Sensibilidad: 0.15 mg/L.

Rango de detección: 0.15-300 mg/L.

12.5.6 Factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1)

Compañía: Peprotech (número de catálogo: 900-K31).

Principio del test: Las proteínas MCP son miembros de la familia de quimiocinas CC que señalizan a través de CCR2 y con la excepción de MCP-1, otros receptores CCR. Las proteínas MCP quimioatraen y activan monocitos, células T activadas, basófilos, células NK y células dendríticas inmaduras. La familia MCP reacciona de forma cruzada entre especies. El kit de ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) prerrevestido de MCP-1 (CCL2) es un inmunoensayo en fase sólida especialmente diseñado para medir MCP-1 (CCL2) con una placa de tiras de 96 pocillos que está pre-revestida con un anticuerpo monoclonal de ratón específico para MCP-1 (CCL2). Contiene MCP-1 recombinante

expresada en *E. coli* (CCL2). El anticuerpo de detección es un anticuerpo policlonal de cabra biotinilado específico para MCP-1 (CCL2).

Tipo de muestra: Suero.

Sensibilidad: < 1 pg/mL.

Rango de detección: 15.6-1000 pg/mL.

12.5.7 Molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1)

Compañía: Millipore (número de catálogo ECM340).

Principio del test: Un anticuerpo monoclonal anti-VCAM-1 se absorbe en los pocillos. El VCAM-1 soluble presente en una muestra luego se une a los anticuerpos absorbidos a los pocillos. Una mezcla de un anticuerpo anti-VCAM-1 monoclonal conjugado con biotina y el conjugado estreptavidina-HRP se añade. El anti-VCAM-1 biotinilado, el anticuerpo se une a VCAM-1 capturado por el primer anticuerpo. La estreptavidina-HRP se une al anti-VCAM-1 biotinilado. El anti-VCAM-1 biotinilado y la estreptavidina-HRP sin conjugar se elimina con un paso de lavado y se agrega solución de sustrato de HRP a los pocillos. El par de anticuerpos monoclonales utilizados en este ELISA detecta la forma soluble de VCAM-1 presente en suero. Se forma una cantidad de producto coloreado, proporcional a la cantidad de VCAM-1 soluble presente en la muestra. La reacción se termina mediante la adición de ácido y la absorbancia se mide a 450 nm. Se prepara una curva estándar a partir de seis diluciones estándar de VCAM-1 y la concentración de la muestra de VCAM-1 se determina.

Tipo de muestra: Suero.

Sensibilidad: 0.59 ng/mL.

Rango de detección: 3.2 - 100 ng/mL.

12.5.8 Molécula de adhesión intercelular (ICAM-1)

Compañía: PeproTech (número de catálogo: 900-K464).

Principio del test: El ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima) de fase sólida de VCAM-1 humano está diseñado para medir la cantidad de VCAM-1 unida entre un par de

anticuerpos emparejados. Se ha recubierto previamente un anticuerpo específico de la VCAM-1 en los pocillos de la microplaca suministrada. A continuación, se añaden muestras, estándares o controles a estos pocillos y se unen al anticuerpo inmovilizado (captura). El sándwich se forma mediante la adición del segundo anticuerpo (detector), se agrega una solución de sustrato que reacciona con el complejo enzima-anticuerpo-objetivo para producir una señal medible. La intensidad de esta señal es directamente proporcional a la concentración del objetivo presente en la muestra original.

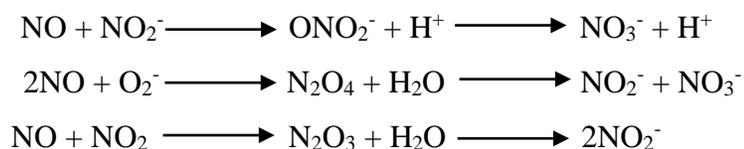
Tipo de muestra: Suero.

Rango de detección: 15.6 - 1000 pg/mL.

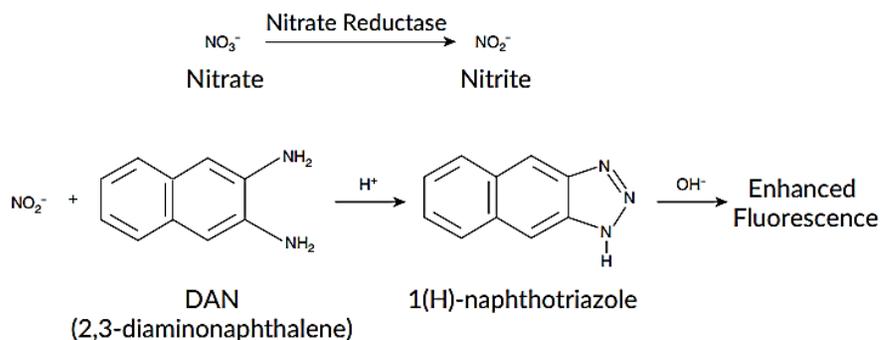
12.5.9 Óxido nítrico (NO)

Compañía: Cayman (número de catálogo: 780051).

Principio del test: NO es producido en cantidades traza por neuronas, células endoteliales, plaquetas y neutrófilos en respuesta a un estímulo homeostático. Este NO es neutralizado rápidamente (tiempo de vida media de 4 seg.) y actuando de un modo paracrino en la transducción de señales. NO interactúa con el grupo prostético HEMO de la guanilato ciclasa, activando a la enzima y conduciendo a un incremento de los niveles de cGMP. NO también es producido por otros tipos celulares (macrófagos, fibroblastos, hepatocitos) en concentraciones micromolares en respuesta a estímulos inflamatorios y mitógenos. En este caso, el papel biológico es la defensa de patógenos a través de la toxicidad oxidativa. Estos niveles altos de NO conducen a la formación de peroxinitritos, destrucción de los núcleos hierro-sulfuro, nitrosilación de grupos tío y nitración de residuos tirosina en proteínas. La cantidad de NO producido en los diferentes sistemas biológicos puede variar en orden de magnitud y su subsecuente reactividad química es diversa. NO lleva a cabo una serie de reacciones con diversas moléculas presentes en los fluidos biológicos, que incluyen:



Los productos finales del NO in vivo son los nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-). La proporción relativa de NO_2^- y NO_3^- es variable y no puede ser predicha con certeza. Así que el mejor índice es la producción total de NO como la suma de NO_2^- y NO_3^- . El ensayo Cayman de nitratos/nitritos es una prueba fluorométrica que mide la concentración total de nitratos/nitritos en un proceso de dos pasos. El primer paso es la conversión de nitrato a nitrito utilizando una nitrato reductasa. El segundo paso es la adición de DAN, provisto en una solución ácida, seguida por NaOH seguido de la detección del producto fluorescente 1(H)-naftotriazol. La medición de la fluorescencia en este componente determina la concentración de NO_2^- .



Tipo de muestra: Plasma-EDTA.

Sensibilidad: 0.2 μM .

Rango de detección: 0.2 - 2.5 μM .

12.6 Caracterizaciones del sistema TNF según el riesgo cardiovascular

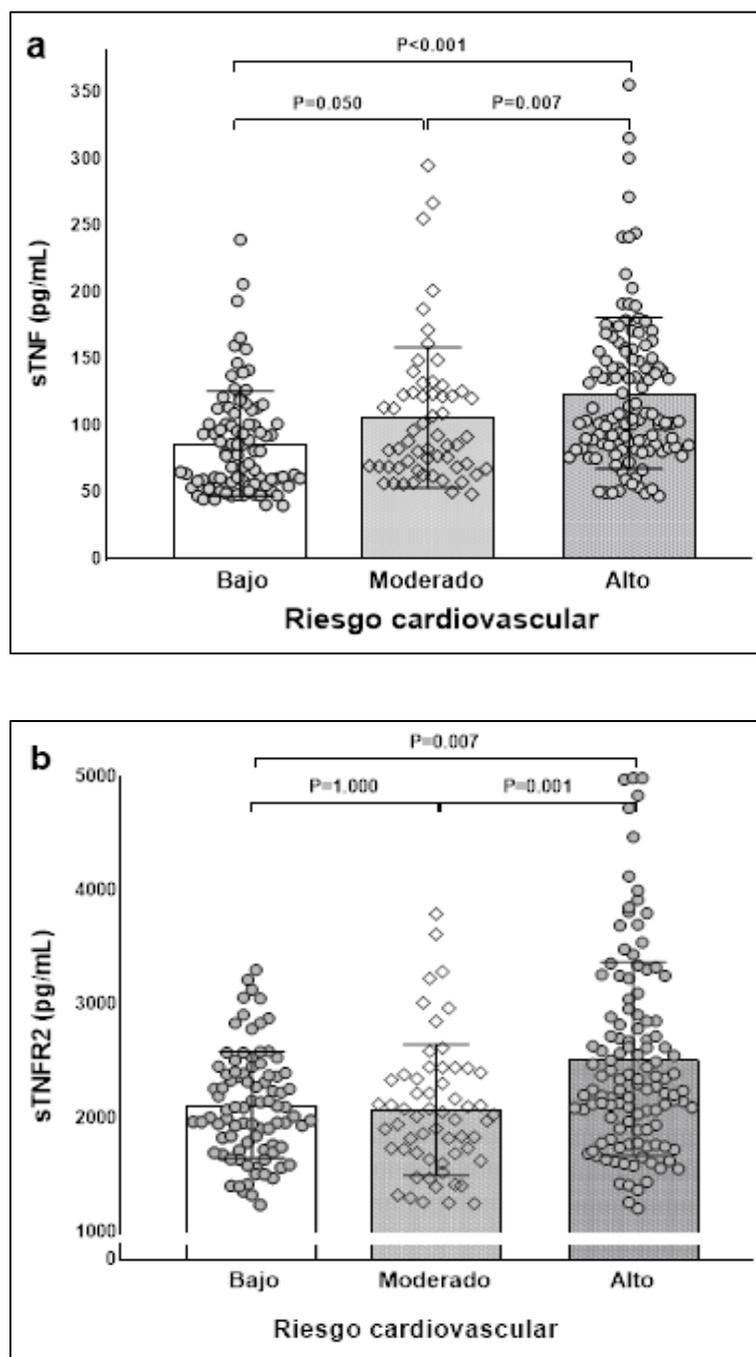
En nuestra cohorte de estudio, más del 64.0% de la presentó un riesgo cardiovascular de moderado a alto (FRS < 10% se considera riesgo bajo, un FRS de 10 a 20% se considera un riesgo moderado y valores > 20% un riesgo alto). El análisis exploratorio mostró 32.2% sujetos tienen un riesgo bajo, 22.3% presentaron riesgo moderado y 44.5% sujetos un riesgo alto), se realizaron una serie de análisis estadísticos agrupando a la población de estudio según el FRS. Los niveles plasmáticos del sistema TNF se presenta en la **Tabla 28**. La comparación de los niveles plasmáticos del sTNF y el sTNFR2 según el riesgo cardiovascular se presenta en la **Figura 17**.

Tabla 28. Niveles plasmáticos del sistema TNF según el riesgo cardiovascular.

Variable	Riesgo bajo (n=88)	Riesgo moderado (n=59)	Riesgo alto (n=118)
sTNF (pg/mL)	86.4 ± 39.3	105.8 ± 52.7	124.2 ± 56.7 ^{§±}
sTNFR1 (pg/mL)	535.1 ± 97.4	542.3 ± 79.7	546.8 ± 78.1
sTNFR2 (pg/mL)	2153.1 ± 557.9	2076.4 ± 574.3	25245.0 ± 851.0 ^{§±}

Prueba de ANOVA unidireccional. Los datos se muestran como media ± desviación estándar. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. P < 0.016 (0.05/3 comparaciones) fue considerado significativo. [§]Riesgo alto vs. riesgo moderado. [±]Riesgo alto vs. riesgo bajo. Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2).

Figura 17. Comparación de los niveles plasmáticos del sTNF (a) y el sTNFR2 (b) según el riesgo cardiovascular.



Prueba de ANOVA unidireccional. Los datos se muestran como media \pm desviación estándar. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ ($0.05/3$ comparaciones) fue considerado significativo. Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2),

El análisis de correlación mostró que el sTNF es inespecífico al correlacionar con la glucosa, la HbA1c y HOMA-IR independientemente del riesgo cardiovascular. El HOMA-Beta se correlacionó con el sTNF solo en los pacientes con riesgo alto (**Tabla 29**).

Tabla 29. Análisis de correlación del sTNF con las variables del metabolismo de carbohidratos por riesgo cardiovascular.

sTNF vs.	Riesgo bajo (n=88)		Riesgo moderado (n=59)		Riesgo alto (n=118)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.394**	< 0.0001	0.465**	< 0.0001	0.510**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.310**	0.003	0.583**	< 0.0001	0.533**	< 0.0001
Insulina (μU/mL)	0.321**	0.002	0.076	0.565	-0.021	0.824
Péptido C (ng/mL)	0.386**	< 0.0001	0.215	0.101	0.070	0.448
HOMA-IR	0.364**	< 0.0001	0.336**	0.009	0.313**	0.001
HOMA-Beta (%)	0.030	0.779	-0.287	0.028	-0.440**	< 0.0001

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ ($0.05/3$ comparaciones) fue considerado significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), tumor necrosis factor soluble (sTNF), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

A diferencia del sTNF, el análisis de correlación mostró que el sTNFR2 es más específico al correlacionar con todas las variables del metabolismo de glucémico (glucosa, la HbA1c, péptido C, HOMA-IR y HOMA-Beta) a excepción de la insulina en los pacientes con riesgo cardiovascular alto (**Tabla 30**). En los pacientes con riesgo moderado el TNFR2 solo correlacionó con la glucosa.

Tabla 30. Análisis de correlación del sTNFR2 con las variables del metabolismo glucémico por riesgo cardiovascular.

sTNFR2 vs.	Riesgo bajo (n=88)		Riesgo moderado (n=59)		Riesgo alto (n=118)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.129	0.232	0.419**	0.001	0.522**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.151	0.161	0.164	0.214	0.580**	< 0.0001
Insulina (μU/mL)	0.077	0.474	0.030	0.824	-0.029	0.755
Péptido C (ng/mL)	0.176	0.101	0.234	0.075	0.241**	0.009
HOMA-IR	0.147	0.171	0.249	0.058	0.340**	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	-0.052	0.628	-0.257	0.049	-0.429**	< 0.0001

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ (0.05/3 comparaciones) fue considerado significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

El análisis de comparación de las variables inflamatorias y de función endotelial según el riesgo cardiovascular se presenta en la **Tabla 31**. Destaca que se encontraron diferencias significativas para los sujetos con riesgo moderado vs. sujetos en riesgo alto para la IL-6, MCP-1, VCAM-1 e ICAM-1. hsCRP ni NO presentaron diferencias significativas.

Tabla 31. Variables inflamatorias y de función endotelial según el riesgo cardiovascular.

Variable	Riesgo bajo (n=88)	Riesgo moderado (n=59)	Riesgo alto (n=118)
hsCRP (mg/L)	1.2 (0.4 – 2.9)	1.6 (0.7 – 3.3)	1.6 (0.8 – 4.2)
IL-6 (pg/mL)	2.1 (1.8 – 2.5)	1.9 (1.6 – 2.3)	2.2 (1.8 – 3.1) [§]
MCP-1 (pg/mL)	213.9 (155.7 – 264.8)	239.6 (189.6 – 314.6) [‡]	250.9 (208.6 – 308.1) [§]
VCAM-1 (ng/mL)	10.4 ± 4.5	10.9 ± 4.0	12.3 ± 4.0 [§]
ICAM-1 (ng/mL)	46.2 (41.2 – 53.0)	48.4 (42.9 – 55.8) [‡]	61.3 (47.7 – 66.5) [§]
NO (µM)	18.3 (11.9 – 28.3)	19.7 (12.5 – 29.7)	21.0 (13.5 – 28.7)

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico, del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Prueba de Kruskal-Wallis o ANOVA unidireccional. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ (0.05/3 comparaciones) fue considerado significativo. [§]Riesgo alto vs. riesgo moderado. [‡]Riesgo alto vs. riesgo bajo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

El análisis de correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular se presentan en la **Tabla 32**, en la que destaca que en los pacientes con riesgo cardiovascular alto, el sTNFR2 correlaciona con las variables inflamatorias IL-6 y MCP-1 y con las variables de función endotelial VCAM-1 e ICAM-1, mientras que no se encontro asociación con el hsCRP, ni con NO.

Tabla 32. Correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.

sTNFR2 vs.	Riesgo bajo (n=88)		Riesgo moderado (n=59)		Riesgo alto (n=118)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P	Rho	Valor P
hsCRP (mg/L)	0.141	0.189	0.320*	0.014	0.178	0.054
IL-6 (pg/mL)	0.172	0.109	0.328*	0.011	0.412**	< 0.0001
MCP-1 (pg/mL)	0.134	0.213	0.203	0.123	0.316**	< 0.0001
VCAM-1 (ng/mL)	0.078	0.471	0.125	0.346	0.262**	0.004
ICAM-1 (ng/mL)	0.044	0.682	0.204	0.121	0.444**	< 0.0001
NO (μ M)	-0.134	0.214	0.190	0.148	0.074	0.423

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ ($0.05/3$ comparaciones). Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

EL sTNF mostró correlación con la variable inflamatoria MCP-1 únicamente, mientras que las tres variables de función endotelial correlacionaron con el sTNF en los sujetos en riesgo cardiovascular alto (**Tabla 33**). En el caso del sTNFR1 no hubo correlación con ninguna variable como se muestra en la **Tabla 34**.

Tabla 33. Correlación del sTNF con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.

sTNF vs.	Riesgo bajo (n=88)		Riesgo moderado (n=59)		Riesgo alto (n=118)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P	Rho	Valor P
hsCRP (mg/L)	0.139	0.196	0.163	0.217	-0.029	0.752
IL-6 (pg/mL)	0.180	0.094	0.274	0.036	0.170	0.065
MCP-1 (pg/mL)	0.092	0.394	0.127	0.338	0.260**	0.004
VCAM-1 (ng/mL)	0.100	0.354	0.268	0.040	0.243**	0.008
ICAM-1 (ng/mL)	0.252	0.018	0.483**	< 0.0001	0.426**	< 0.0001
NO (μ M)	-0.097	0.367	-0.027	0.841	0.255**	0.005

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ ($0.05/3$ comparaciones). Abreviaturas: factor de necrosis tumoral soluble (sTNF), proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

Tabla 34. Análisis de correlación del sTNFR1 con las variables inflamatorias y de función endotelial por riesgo cardiovascular.

sTNFR1 vs.	Riesgo bajo (n=88)		Riesgo moderado (n=59)		Riesgo alto (n=118)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P	Rho	Valor P
hsCRP (mg/L)	0.327**	0.002	0.106	0.426	-0.039	0.676
IL-6 (pg/mL)	0.154	0.153	0.012	0.930	0.031	0.738
MCP-1 (pg/mL)	0.203	0.058	0.173	0.190	0.023	0.801
VCAM-1 (ng/mL)	0.192	0.074	-0.058	0.665	-0.106	0.255
ICAM-1 (ng/mL)	0.401**	<0.0001	0.099	0.454	-0.052	0.577
NO (μ M)	-0.349**	0.001	-0.079	0.553	-0.075	0.417

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.016$ ($0.05/3$ comparaciones). Abreviaturas: receptor soluble 1 del TNF (sTNFR1), proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

12.7 Análisis del sistema TNF por diagnóstico de menopausia

En el análisis comparativo para las variables metabólicas por diagnóstico de menopausia se presenta en la **Tabla 35**. Como podemos observar, se encontró diferencia significativa para el control glucémico (GA, HbA1c, péptido C y HOMA-Beta), del metabolismo de lípidos (TGC y LDL) y la presencia de resistencia a la insulina (HOMA-IR > 2.6).

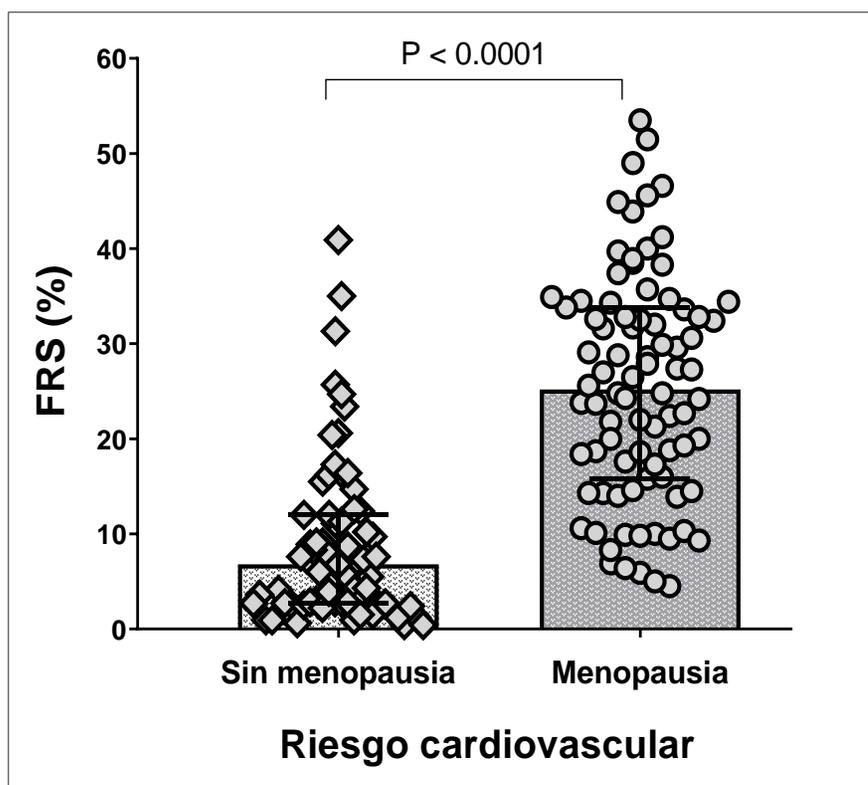
Tabla 35. Variables metabólicas por diagnóstico de menopausia.

Variable	Sin menopausia (n=68)	Menopausia (n=86)	Valor P
GA (mg/dL)	95.0 (85.0 – 109.7)	112.0 (97.0 – 182.2)	< 0.0001
HbA1c (%)	5.3 (5.1 – 5.8)	6.2 (5.3 – 8.1)	< 0.0001
Insulina (μU/mL)	9.5 (6.2 – 14.0)	9.5 (5.7 – 12.9)	0.915
Péptido C (ng/mL)	2.2 (1.7 – 2.9)	2.6 (2.0 – 3.3)	0.040
TGC (mg/dL)	136.0 (84.0 – 182.7)	171.0 (124.5 – 223.7)	0.001
Colesterol (mg/dL)	153.0 (123.7 – 193.7)	165.0 (133.5 – 205.7)	0.097
HDL (mg/dL)	29.5 (10.2 – 40.5)	24.0 (12.0 – 34.0)	0.261
LDL (mg/dL)	93.6 (74.5 – 129.0)	111.5 (85.0 – 142.7)	0.012
Ácido úrico (mg/dL)	4.6 ± 1.2	4.7 ± 1.1	0.294
HOMA-IR	2.3 (1.4 – 3.8)	3.0 (1.9 – 4.9)	0.025
HOMA-Beta (%)	104.3 (71.4 – 150.7)	63.2 (27.6 – 112.5)	< 0.0001
FRS (%)	6.9 (2.6 – 12.2)	26.0 (15.9 – 34.5)	< 0.0001

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media ± desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney o T de student. P< 0.05 se consideró significativo. Abreviaturas: glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Es interesante destacar que las mujeres menopáusicas tienen un riesgo cardiovascular alto ($P < 0.0001$) al compararlo con las mujeres sin menopausia 26.0 (15.9 – 34.3) % vs. 6.8 (2.8 – 12.0) % (**Figura 18**). La asociación del riesgo cardiovascular con las variables metabólicas en mujeres sin y con menopausia se muestra en la **Tabla 36**.

Figura 18. Riesgo cardiovascular en mujeres sin y con menopausia.



Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviatura: puntuación de riesgo Framingham (FRS).

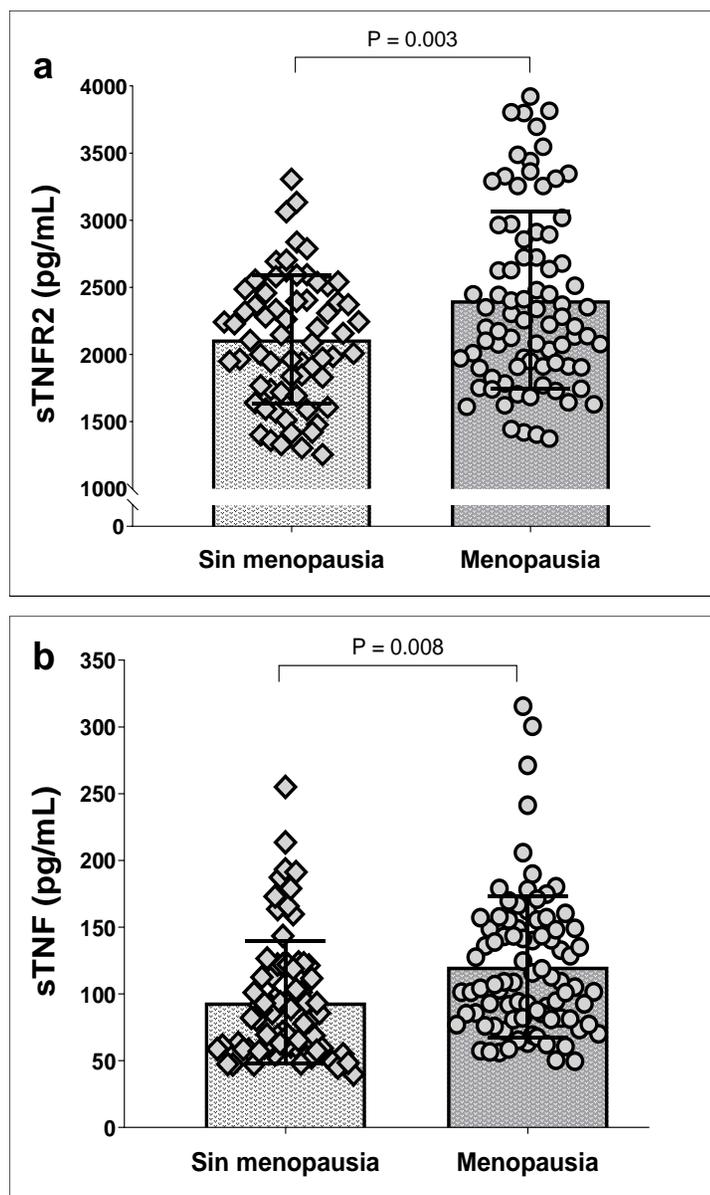
Tabla 36. Asociación del riesgo cardiovascular con las variables metabólicas en mujeres sin y con menopausia.

FRS vs.	Sin menopausia (n=68)		Menopausia (n=86)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.282*	0.021	0.458**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.193	0.119	0.424**	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	0.164	0.185	0.053	0.626
Péptido C (ng/mL)	0.089	0.472	0.195	0.073
TGC (mg/dL)	0.405**	0.001	0.204	0.060
Colesterol (mg/dL)	0.075	0.545	-0.044	0.686
HDL (mg/dL)	-0.373**	0.002	-0.397**	< 0.0001
LDL (mg/dL)	0.297*	0.015	0.115	0.294
Ácido úrico (mg/dL)	0.111	0.369	-0.114	0.295
HOMA-IR	0.270*	0.027	0.322**	0.002
HOMA-Beta (%)	-0.085	0.494	-0.333**	0.002

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. Los niveles de significancia se ajustaron con la corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: puntuación de riesgo Framingham (FRS), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR).

En la **Figura 19** podemos ver la comparación de los niveles plasmáticos del sTNFR2 y sTNF en mujeres sin y con menopausia. En el análisis no se encontró diferencia significativa para el sTNFR1 ($P= 0.474$).

Figura 19. Los niveles plasmáticos del sTNFR2 y sTNF en mujeres sin y con menopausia.



Los datos se muestran como media \pm desviación estándar. Las comparaciones entre los grupos se analizaron mediante la prueba de T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviatura: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), factor de necrosis tumoral soluble (sTNF).

Considerando la asociación encontrada del sTNFR2 con las variables de control glucémico, se realizó el análisis de regresión lineal multivariable en las mujeres con menopausia, mostrando que la HbA1c ($b= 0.739$, $P< 0.0001$) y el péptido C ($b= 0.174$, $P= 0.030$) eran determinantes independientes de los niveles de sTNFR2 ($R^2= 0.583$) luego del ajuste por edad e IMC (**Tabla 37**). Los niveles de sTNF solo presentaron asociación con HbA1c ($R^2= 0.583$, $b= 0.407$, $P= 0.001$). sTNFR1 no tuvo asociación significativa con ningún parámetro metabólico estudiado (datos no mostrados).

Tabla 37. Análisis de regresión lineal múltiple para sTNFR2 en las mujeres con menopausia.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
	B	Error estándar	Beta	t	Sig.
(Constante)	-172.310	879.626		-0.196	0.845
Edad	14.568	11.945	0.091	1.220	0.226
IMC (Kg/m ²)	-20.499	13.095	-0.128	-1.565	0.121
HbA1c (%)	297.379	29.407	0.739	10.113	< 0.0001
Péptido C (ng/mL)	139.552	63.359	0.174	2.203	0.030

Análisis de regresión lineal multivariable ajustada por edad e IMC. Abreviaturas: hemoglobina glucosilada (HbA1c), índice de masa corporal (IMC).

El análisis de correlación entre el sTNFR2 y sTNF con las variables metabólicas en las mujeres con menopausia se presentan en las **Tablas 38 y 39**. Como podemos ver en ambas tablas, el sTNFR2 y el sTNF correlacionaron con el metabolismo glucémico (GA, HbA1c y HOMA-Beta), mientras que el sTNFR2 también correlacionó con el péptido C, con la resistencia a la insulina y con el riesgo cardiovascular.

Tabla 38. Correlación del sTNFR2 con las variables metabólicas según menopausia.

sTNFR2 vs.	Sin menopausia (n=68)		Menopausia (n=86)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.287*	0.017	0.662**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.266*	0.028	0.630**	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	-0.058	0.639	-0.120	0.273
Péptido C (ng/mL)	0.087	0.483	0.241*	0.025
TGC (mg/dL)	-0.082	0.507	0.204	0.059
Colesterol (mg/dL)	0.183	0.134	-0.022	0.841
HDL (mg/dL)	0.213	0.081	-0.159	0.144
LDL (mg/dL)	0.110	0.372	0.016	0.881
Ácido úrico (mg/dL)	-0.218	0.075	0.117	0.282
HOMA-IR	0.155	0.206	0.368**	< 0.0001
HOMA-Beta (%)	-0.310*	0.010	-0.597**	< 0.0001
FRS (%)	-0.061	0.620	0.300**	0.005

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

Tabla 39. Correlación del sTNF con las variables metabólicas según menopausia.

sTNF vs.	Sin menopausia (n=68)		Menopausia (n=86)	
	Rho	Valor P	Rho	Valor P
GA (mg/dL)	0.541**	< 0.0001	0.461**	< 0.0001
HbA1c (%)	0.521**	< 0.0001	0.502**	< 0.0001
Insulina (μ U/mL)	0.158	0.197	-0.021	0.846
Péptido C (ng/mL)	0.343**	0.004	0.115	0.294
TGC (mg/dL)	0.196	0.109	0.138	0.204
Colesterol (mg/dL)	-0.035	0.779	-0.036	0.743
HDL (mg/dL)	-0.266*	0.029	0.030	0.784
LDL (mg/dL)	0.070	0.569	0.030	0.784
Ácido urico (mg/dL)	0.016	0.899	0.012	0.911
HOMA-IR	0.375**	0.002	0.262*	0.015
HOMA-Beta (%)	-0.346**	0.004	-0.377**	< 0.0001
FRS (%)	0.323**	0.007	0.189	0.082

El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Spearman. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: tumor necrosis factor soluble (sTNF), glucosa de ayuno (GA), hemoglobina glucosilada (HbA1c), triglicéridos (TGC), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), Modelo de Evaluación Homeostático (HOMA)-resistencia a la insulina (IR), puntuación de riesgo Framingham (FRS).

El siguiente análisis fue la comparación de los marcadores inflamatorios y de función endotelial en las mujeres de la cohorte según el diagnóstico de menopausia. Como se puede ver en la **Tabla 40**, todas las variables tuvieron diferencias a excepción del hsCRP, con valores más altos en las pacientes con menopausia.

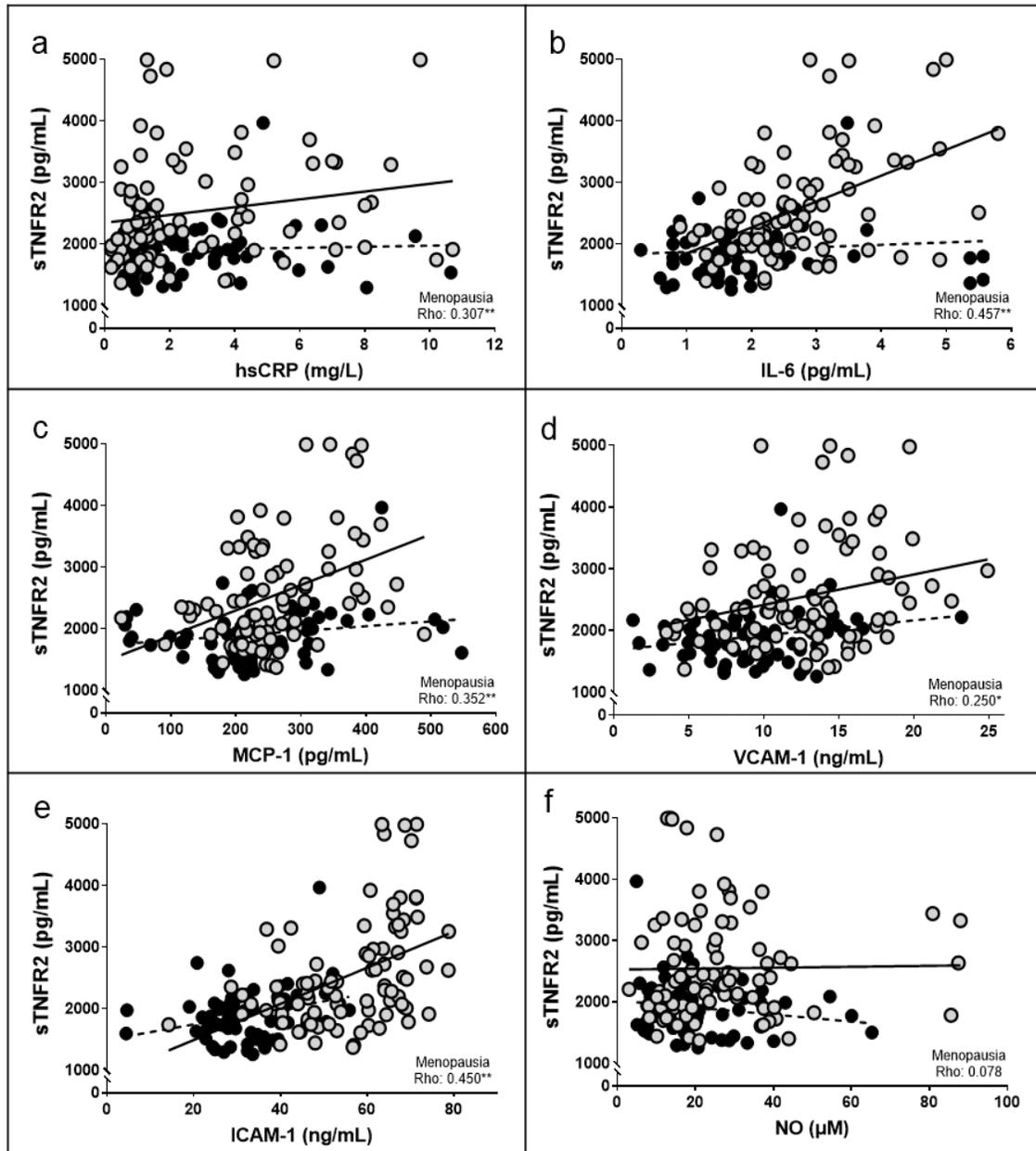
Tabla 40. Comparación de las variables inflamatorias y de función endotelial según menopausia.

Variable	Sin menopausia (n=68)	Menopausia (n=86)	Valor P
hsCRP (mg/L)	1.4 (0.4 – 2.9)	1.6 (1.0 – 4.2)	0.058
IL-6 (pg/mL)	2.2 (1.8 – 2.7)	2.4 (1.9 – 3.1)	0.001
MCP-1 (pg/mL)	212.0 (164.9 – 291.2)	247.5 (211.1 – 305.8)	0.028
VCAM-1 (ng/mL)	11.0 ± 3.9	12.6 ± 4.5	0.021
ICAM-1 (ng/mL)	47.2 (42.0 – 55.0)	59.8 (46.2 – 67.1)	< 0.0001
NO (µM)	18.6 (12.3 – 27.5)	21.6 (14.2 – 31.6)	0.019

Los datos se muestran como mediana y rango intercuartílico del percentil 25 al 75 o media \pm desviación estándar. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney o T de student. $P < 0.05$ se consideró significativo. Abreviaturas: proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

El análisis de correlación mostró que el sTNFR2 estaba asociado con todas las variables inflamatorias y de función endotelial, a excepción del NO en las pacientes con menopausia. El sTNF presento asociación con la IL-6 (Rho= 0.363, P= 0.001), el VCAM-1 (Rho= 0.245, P= 0.023) y el ICAM-1 (Rho= 0.464, P< 0.0001). El sTNFR1 no presento relación con ninguna variable. La asociación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en pacientes con menopausia se presentan en la **Figura 20**.

Figura 20. Correlación del sTNFR2 con las variables inflamatorias y de función endotelial en pacientes con menopausia.



El valor de P mostrado se estimó a partir de los análisis de correlación de Spearman. Los coeficientes de correlación Rho corresponden al grupo de mujeres con menopausia. *La correlación es significativa al nivel de 0.05 (2 colas). **La correlación es significativa al nivel de 0.0001 (2 colas). Abreviaturas: receptor soluble 2 del TNF (sTNFR2), proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP), interleucina-6 (IL-6), factor quimiotáctico del monocito-1 (MCP-1), molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), óxido nítrico (NO).

13. Publicaciones

13.1 Resúmenes presentados en congresos

1. Hernández Hernández ME, **Pulido Pérez P**, Torres Rasgado E, Ruiz Vivanco G, Rodríguez Antolín J, Nicolás Toledo L, De Hilario Ramírez A, González Mondragón AE, Pérez Fuentes R. *Cartel 92: Relación de los niveles de cortisol sérico con la sensibilidad a la insulina e indicadores antropométricos en sujetos de la ciudad de Puebla*. XXVI Foro Sur de Investigación en Salud-IMSS. 17 al 19 de julio de 2019. Mérida, Yucatán, México.
2. Torres Rasgado E, **Pulido Pérez P**, Ruiz Vivanco G, González Mejía ME, Porchia ML, Pérez Fuentes R. *Cartel 156: Correlación entre los niveles plasmáticos de amilina y resistencia a la insulina en sujetos no diabéticos con antecedentes familiares de diabetes tipo 2 con resistencia a la insulina*. Foro Sur de Investigación en Salud-IMSS. 17 al 19 de julio de 2019. Mérida, Yucatán, México.
3. García Guzmán BX, Torres Rasgado E, González Mondragón AE, De Hilario Ramírez A, Martínez Martínez KA, Hernández Hernández ME, Vázquez Páez MF, **Pulido Pérez P**, Ruiz Vivanco G, Pérez Fuentes R. *Cartel 53: Correlación entre los niveles de péptido C y óxido nítrico en pacientes sin y con disglucemia de la UMF No.2 de Puebla*. Foro Nacional de Investigación en Salud-IMSS. 02 al 04 de octubre de 2019. Acapulco, Guerrero, México.
4. López Carrizosa MF, Torres Rasgado E, Martínez Martínez KA, González Mondragón AE, **Pulido-Pérez P**, Hernández Hernández ME, Ruiz Vivanco G, Vázquez Páez MF, Pérez Fuentes R. *Cartel 130. Niveles de la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) en pacientes sin y con diabetes tipo 2*. Foro Nacional de Investigación en Salud-IMSS. 02 al 04 de octubre de 2019. Acapulco, Guerrero, México.

5. Torres Rasgado E, **Pulido-Pérez P**, Ruiz Vivanco G, González Mejía ME, Porchia ML, Pérez Fuentes R. *Cartel 131. Correlación entre los niveles plasmáticos de amilina y resistencia a la insulina en sujetos no diabéticos con antecedentes familiares de diabetes tipo 2 con y sin resistencia a la insulina.* Foro Nacional de Investigación en Salud-IMSS. 02 al 04 de octubre de 2019. Acapulco, Guerrero, México.

6. Martínez Martínez KA, Torres Rasgado E, De Hilario Ramírez A, García Guzmán BX, González Mondragón AE, López Carrizosa MF, Hernández Hernández ME, **Pulido Pérez P**, Vázquez Páez MF, Pérez Fuentes R. *Cartel 136. Correlación entre la ingesta de carbohidratos y los niveles séricos de triglicéridos en pacientes con diabetes tipo 2.* Foro Nacional de Investigación en Salud-IMSS. 02 al 04 de octubre de 2019. Acapulco, Guerrero, México.

Cartel 92. RELACIÓN DE LOS NIVELES DE CORTISOL SÉRICO CON LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA E ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS EN SUJETOS DE LA CIUDAD DE PUEBLA.

María Elena Hernández Hernández. Patricia Pulido Pérez. Enrique Torres Rasgado. Guadalupe Ruiz Vivanco. Jorge Rodríguez Antolín. Leticia Nicolás Toledo. Adela De Hilario Ramírez. Angel Eduardo González Mondragón. Ricardo Pérez Fuentes.

Puebla.

CIBIOR-LIFEC, FacMed-Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Universidad Autónoma de Tlaxcala. CIBIOR-LIFEC, Universidad Autónoma de Tlaxcala. FacMed-Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. CIBIOR-LIFEC, FacMed-BUAP.

Antecedentes: Últimamente los estudios demuestran que el estilo de vida estresante (estrés fisiológico y psicosocial) incrementan el riesgo de padecer algún trastorno metabólico. Ante una situación de estrés el organismo responde activando al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal con la liberación de cortisol. Niveles elevados de esta hormona podría, jugar un papel importante en la aparición de factores de riesgo metabólico y por tanto con el desarrollo de Diabetes Tipo 2 (DT2) y enfermedad cardiovascular (ECV).

Objetivos: Evaluar la relación de los niveles de cortisol sérico con la sensibilidad a la insulina e índices antropométricos en sujetos de la ciudad de Puebla.

Material y Métodos: Se diseñó un estudio transversal y analítico para determinar relación entre los niveles de cortisol sérico y los parámetros antropométricos IMC, ICC, ICT y el índice adiposo muscular (IAM). 181 sujetos de ambos géneros y edad comprendida entre 18 a 60 años, se caracterizaron antropométrica, clínica y metabólicamente. La Sensibilidad a la Insulina se determinó con QUICKI igual a $1 / (\log \text{Ins} + \log \text{GA mg/dL})$. Se cuantificaron los niveles de cortisol por ensayo de quimioluminiscencia inmuno absorbente en suero. El análisis estadístico se realizó en el programa SPSS v23.

Resultados: Se encontró una correlación negativa entre la concentración de cortisol con la sensibilidad a la insulina y los índices cintura cadera (ICC) y adiposo-muscular (IAM).

Conclusiones/Discusión: El nivel de cortisol sérico elevado afecta la sensibilidad a la insulina e incrementa la cantidad de masa grasa en nuestra muestra de estudio, por lo que la disminución de su hipersecreción puede reducir el desarrollo de alteraciones metabólicas.

DEL 17 AL 19 DE JULIO, DE 2019
MÉRIDA, YUCATÁN

www.forosurdeinvestigacion.org

Cartel 156. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE AMILINA Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN SUJETOS NO DIABÉTICOS CON ANTECEDENTES FAMILIARES DE DIABETES TIPO 2 CON RESISTENCIA A LA INSULINA.

Enrique Torres Rasgado. Patricia Pulido Perez. Guadalupe Ruiz Vivanco. Martha Elba Gonzalez Mejia. Leonardo M Porchia. Ricardo Perez Fuentes.
Puebla.

Facultad de Medicina, BUAP. PPosgrado en Ciencias Biologicas, Tlaxcala. Posgrado en Ciencias Biologicas, Tlaxcala. LIFEC-CIBIOR-IMSS.

Antecedentes: La Resistencia a la Insulina (RI) y disfunción de la célula beta se han relacionado en la patogénesis de la diabetes tipo 2 (DT2). Niveles alterados de Amilina, péptido co-secretado con la insulina en las células beta pancreáticas, han sido reportados en DT2. Familiares en Primer Grado (FPG) con DT2 tienen un riesgo de desarrollar DT2 a través de mecanismos no claros. Niveles alterados de Insulina y RI han sido reportados en los FPG con DT2.

Objetivos: Determinar la correlación entre los niveles plasmáticos de Amilina y resistencia a la insulina en sujetos no diabéticos con antecedentes familiares de diabetes tipo 2 con resistencia a la insulina.

Material y Métodos: Se diseñó un estudio transversal, descriptivo y prospectivo que incluyó 92 individuos con antecedentes familiares de DT2. Se evaluaron metabólicamente considerando glucosa de ayuno (GA), Hemoglobina glicosilada (HbA1c), Triglicéridos (TGC) e insulina (Ins). Se evaluó la RI por medio del modelo matemático HOMA-IR y la función de la célula β por el HOMA- β . Se determinaron los niveles Amilina por ELISA. De acuerdo al HOMA-IR se conformaron 2 grupos: RI(-) (HOMA-IR < 2.5) y RI (+) (HOMA-IR > 2.5).

Resultados: Nuestros resultados muestran que los niveles plasmáticos de amilina se correlacionaron positivamente con insulina (Correlación de Spearman $\rho = 0.367$, $p < 0.01$), péptido C (Correlación de Spearman $\rho = 0.383$, $p < 0.01$) y HOMA- β (Correlación de Spearman $\rho = 0.417$, $p < 0.05$). Por otra parte, los sujetos con RI presentaron niveles elevados de Amilina (10.3 ± 0.9 pmol/L) en comparación con aquellos con RI normal (7.4 ± 0.6 pmol/L, $P < 0.05$), así como también una correlación entre Amilina vs HOMA-IR (Spearman's $\rho = 0.339$, $p < 0.05$).

Conclusiones/Discusión: Nuestros resultados claramente muestran un aumento en los niveles de Amilina en pacientes con RI. Estudios prospectivos son necesarios para determinar la relación causal entre hiperamilinemia y RI.

DEL 17 AL 19 DE JULIO, DE 2019
MÉRIDA, YUCATÁN

www.forosurdeinvestigacion.org

Cartel 53. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE PÉPTIDO C Y OXIDO NÍTRICO EN PACIENTES SIN Y CON DISGLUCEMIA DE LA UMF NO.2 DE PUEBLA.

Belegui Xillonen Garcia Guzman (Facultad de Medicina BUAP). Enrique Torres Rasgado (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Angel Eduardo González Mondragón (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Adela De Hilario Ramírez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Karen Alejandra Martínez Martínez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). María Elena Hernández Hernández (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). María Fernanda Vazquez Páez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Patricia Pulido Pérez (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). Guadalupe Ruiz Vivanco (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). Ricardo Pérez Fuentes (Centro de Investigación Biomédica de Oriente).

Objetivos. Estudios previos han mostrado la participación de marcadores de inflamación en la Diabetes tipo 2 (DT2), El Oxido Nítrico (NO) ha demostrado su importancia en procesos inflamatorios. La determinación del Péptido C se ha considerado como un marcador de la actividad y niveles y de la hormona Insulina, por lo cual se ha propuesto como un parámetro de evaluación en los pacientes diabéticos y en sus familiares en primer grado, por lo que el objetivo de este estudio es determinar la relación de los niveles plasmático del Péptido C y Oxido Nítrico en pacientes con y sin disglucemia en usuarios activos de la UMF No.2 de Puebla.

Material y métodos. Se diseñó un estudio de tipo observacional, transversal, prolectivo que incluyó a 224 derechohabientes de UMF No.2, los cuales se caracterizaron clínica, antropométrica y metabólicamente. Se conformaron 2 grupos: Normoglucémicos (NG) y Disglucémicos (DISG). Se cuantificaron los niveles de péptido C y Óxido Nítrico.

Resultados. Del 100% (n=224) de la población el 41% (n=92) presentaron NG y el 59% (n=132) DISG. Al analizar los niveles plasmáticos de Péptido C en los grupos de estudio se encontró que los pacientes disglucémicos presentaron niveles significativamente mas altos que los NG (2.9 ± 1.3 vs 2.2 ± 1.1 ; ng/mL, $p < 0.05$), mientras que los niveles de NO también presentaron diferencias significativas entre disglucémicos y NG (16.8 ± 9.8 vs 11.8 ± 7.0 ; μM , $p < 0.05$). Finalmente, se encontró una correlación positiva entre péptido C y NO en los pacientes disglucémicos ($\rho = 0.393$, $p < 0.05$).

Conclusiones. Nuestros resultados muestran una relación entre los niveles plasmáticos de péptido C y NO en pacientes con DT2. Se requieren estudios prospectivos para estudiar la participación de estas variables en la fisiopatología de la enfermedad.

Cartel 130. NIVELES DE LA PROTEÍNA QUIMIOTÁCTICA DE MONOCITOS (MCP-1) EN PACIENTES SIN Y CON DIABETES TIPO 2.

María Fernanda López Carrizosa (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Enrique Torres Rasgado (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Karen Alejandra Martínez Martínez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Ángel Eduardo González Mondragón (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Patricia Pulido Pérez (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). María Elena Hernández Hernández (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). Guadalupe Ruiz Vivanco (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). María Fernanda Vázquez Páez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Ricardo Pérez Fuentes (Centro de Investigación Biomédica de Oriente).

Objetivos. Estudios previos han mostrado la participación de marcadores de inflamación, como por ejemplo la Proteína Quimiotáctica de Monocitos (MCP-1), en la fisiopatogenia de la Diabetes Tipo 2 (DT2). El objetivo del presente estudio fue determinar los niveles de MCP-1 en pacientes sin y con diabetes tipo 2.

Material y métodos. Se diseñó un estudio observacional, descriptivo, analítico, transversal, prospectivo y unicéntrico que incluyó a 106 derechohabientes de la unidad médico familiar número 2 del IMSS y que aceptaron participar en el estudio, los cuales fueron caracterizados antropométrica (IMC, GC%, PCI, PCa), metabólica (GA, G2H, Insulina, HbA1c) y clínicamente (TAS, TAD) para la conformación de dos grupos de estudio: Grupo control: cuando Glucosa de Ayuno (GA) fue < 100 mg/dL y Glucosa de 2 horas (G2H) < 140 mg/dL, y el grupo DT2 con GA > 126 mg/dL, G2H > 199 mg/dL. Se cuantificaron los niveles de MCP-1 en la población de estudio por medio de la técnica de ELISA.

Resultados. Nuestros resultados mostraron que los pacientes sin DT2 son estadísticamente más jóvenes que los pacientes con DT2 (37.3 ± 13.1 vs 49.5 ± 10.1 , $p < 0.05$). Por otra parte, el grupo de pacientes con DT2 mostraron un IMC > de 31.6 ± 5.4 Kg/m², mientras que el grupo sin DT2 fue de 25.9 ± 4.4 Kg/m² ($p < 0.05$). Los niveles séricos de MCP-1 fueron significativamente más altos en los pacientes DT2 que los pacientes sin DT2 (449.3 ± 133.6 vs 557.9 ± 141.6 , $p < 0.05$) además el análisis de los resultados con respecto al MCP-1 muestra que los pacientes DT2 tienen valores más altos que los pacientes controles.

Conclusiones. Nuestros resultados muestran niveles séricos de MCP-1 significativamente más altos en los pacientes diabéticos, lo cual podría sugerir la presencia de inflamación vascular clínicamente asintomática en pacientes con DT2.

Cartel 131. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE AMILINA Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN SUJETOS NO DIABÉTICOS CON ANTECEDENTES FAMILIARES DE DIABETES TIPO 2 CON Y SIN RESISTENCIA A LA INSULINA.

Enrique Torres Rasgado (Facultad de Medicina de la BUAP). Patricia Pulido Perez (LIFEC-CIBIOR). Guadalupe Ruiz Vivanco (Centro de Investigación Biomédica de Oriente). Martha Elba Gonzalez Mejia (Facultad de Medicina de la BUAP). Leonardo Martín Porchia (LIFEC-CIBIOR). Ricardo Perez Fuentes (Centro de Investigación Biomédica de Oriente).

Objetivos. La Resistencia a la Insulina (RI) y disfunción de la célula beta se han relacionado en la patogénesis de la diabetes tipo 2 (DT2). Niveles alterados de Amilina, péptido co-secretado con la insulina en las células beta pancreáticas, han sido reportados en DT2. Familiares en Primer Grado (FPG) con DT2 tienen un riesgo de desarrollar DT2 a través de mecanismos no claros. Niveles alterados de Insulina y RI han sido reportados en los FPG con DT2. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar los niveles plasmáticos de Amilina en sujetos no diabéticos con antecedentes familiares de diabetes tipo 2 con y sin resistencia a la insulina.

Material y métodos. Se diseñó un estudio transversal, descriptivo y prospectivo que incluyó 92 individuos con antecedentes familiares de DT2. Se evaluaron metabólicamente considerando glucosa de ayuno (GA), Hemoglobina glicosilada (HbA1c), Triglicéridos (TGC) e insulina (Ins). Se evaluó la RI por medio del modelo matemático HOMA-IR y la función de la célula β por el HOMA- β . Se determinaron los niveles Amilina por ELISA. De acuerdo al HOMA-IR se conformaron 2 grupos: RI(-) (HOMA-IR < 2.5) y RI (+) (HOMA-IR > 2.5).

Resultados. Nuestros resultados muestran que los niveles plasmáticos de amilina se correlacionaron positivamente con insulina (Correlación de Spearman $\rho=0.367$, $p<0.01$), péptido C (Correlación de Spearman $\rho=0.383$, $p<0.01$) y HOMA- β (Correlación de Spearman $\rho=0.417$, $p<0.05$). Por otra parte, los sujetos con RI presentaron niveles elevados de Amilina (10.3 ± 0.9 pmol/L) en comparación con aquellos con RI normal (7.4 ± 0.6 pmol/L, $P<0.05$).

Conclusiones. Nuestros resultados claramente muestran un aumento en los niveles de Amilina en pacientes con RI. Estudios prospectivos son necesarios para determinar la relación causal entre hiperamilinemia y RI.

Cartel 136. CORRELACIÓN ENTRE LA INGESTA DE CARBOHIDRATOS Y LOS NIVELES SÉRICOS DE TRIGLICÉRIDOS EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2.

Karen Alejandra Martínez Martínez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Enrique Torres Rasgado (Facultad de Medicina BUAP). Adela De Hilario Ramírez (Facultad de Medicina BUAP). Belegui Xillonen Garcia Guzman (Facultad de Medicina BUAP). Angel Eduardo González Mondragón (Facultad de Medicina BUAP). María Fernanda López Carrizosa (Facultad de Medicina BUAP). María Elena Hernández Hernández (CIBIOR). Patricia Pulido Pérez (CIBIOR). María Fernanda Vázquez Páez (Facultad de Medicina BUAP). Ricardo Pérez Fuentes (CIBIOR).

Objetivos. Se ha demostrado que el factor de riesgo más importante de la diabetes tipo 2 (DT2) son los estilos de vida, entre estos la alimentación, aunado a que los pacientes se caracterizan por presentar dislipidemias. El consumo excesivo de hidratos de carbono (HC) pueden elevar los niveles de Triglicéridos (TGC). Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la correlación entre la ingesta de carbohidratos y los niveles séricos de triglicéridos en pacientes con diabetes tipo 2.

Material y métodos. Estudio de tipo observacional, descriptivo, transversal, prolectivo y unicéntrico que incluyó a 29 pacientes que presentaron diabetes tipo 2 de la Unidad Médico Familiar Numero 2 del IMSS-Puebla. Se evaluó la ingesta de HC por medio del diario alimentario de 7 días el cual fue evaluado por el software Nutrimind. Se caracterizaron a los pacientes metabólicamente por medio de glucosa de ayuno, insulina y Triglicéridos (TGC).

Resultados. Nuestros resultados mostraron que no existió diferencia significativa en el género (F;18(62.1%)/M;11(37.9%), $X^2 = 1.69$; $p > 0.05$). El 60% (n=17) de la población de estudio presentaron alteración de la hemoglobina glicosilada. Principalmente presentaron obesidad (IMC = 30.8 ± 0.9 ; Kg/m²). Los pacientes diabéticos consumen en promedio 255.5 ± 15.5 g por día de hidratos de carbono. Por otra parte, los niveles séricos de TGC fueron de 243.0 ± 43.3 mg/dL. Nuestros resultados muestran que existió una correlación positiva moderada entre el consumo de hidratos de carbono y los niveles de TGC ($\rho = 0.510$; $p < 0.05$).

Conclusiones. Nuestros resultados muestran correlación positiva entre la ingesta de HC y los niveles de TGC en los pacientes DT2. Se requieren estudios prospectivos para evaluar el papel de esta correlación en la fisiopatología de la DT2.

13.2 Artículos de divulgación

1. De Hilario Ramírez A, Torres-Rasgado E, Hernández Hernández ME, **Pulido Pérez P**, García Guzmán BX, González Mondragón AE, Martínez Martínez KA, Ruiz Vivanco G, Pérez Fuentes R. *Evaluación de la función renal en pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 de menos de 5 años de evolución*. Revista de la Conferencia Científica Anual sobre Síndrome Metabólico 2019; 6 (1):235-39. ISSN 2395-8103
2. González Mondragón AE, Torres-Rasgado E, García Guzmán BX, De Hilario Ramírez A, Martínez Martínez KA, **Pulido Pérez P**, Hernández Hernández ME, Ruiz Vivanco G, Pérez Fuentes R. *Frecuencia de síndrome de ovario poliquístico en pacientes con hiperglucemia*. Revista de la Conferencia Científica Anual sobre Síndrome Metabólico 2019; 6 (1):240-44. ISSN 2395-8103
3. Vázquez Páez MF, **Pulido-Pérez P**, Pérez Fuentes R, Ruiz Vivanco G, Hernández Hernández ME, González Mondragón AE, De Hilario Ramírez A, Martínez Martínez K, Torres Rasgado E. *Asociación entre la Acantosis Nigricans y resistencia a la insulina en pacientes con Diabetes Tipo 2*. Revista de la Conferencia Científica Anual sobre Síndrome Metabólico 2019; 6 (1):245-50. ISSN 2395-8103.

Evaluación de la Función renal en pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2 de menos de 5 años de evolución.

MPSS De Hilario Ramírez Adelal, D.C.Torres Rasgado Enrique¹, M.C. Hernández Hernández María Elenal, M.C. Pulido Pérez Patricia¹, MPSS García Guzmán Belegui Xilloneni, MPSS González Mondragón Ángel Eduardo¹, MPSS Martínez Martínez Karen Alejandra¹, M.C. Ruiz Vivanco Guadalupe¹, PhDPérez Fuentes Ricardo¹, 2. Facultad de Medicina BUAP¹, LIFEC-CIBOR IMSS²

RESUMEN. Introducción: La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública que afecta a millones de personas en todo el mundo. La Diabetes Tipo 2 (DT2) es la causa principal asociada a la ERC, por lo que es importante evaluar la función renal en pacientes diabéticos.

Objetivo: Evaluar la Función renal en pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2 de menos de 5 años de evolución.

Material y métodos: Se diseñó un estudio de tipo descriptivo, observacional, en pacientes con DT2 de menos de 5 años de evolución, donde se evaluó la función renal, mediante la determinación de creatinina sérica, depuración de creatinina y microalbuminuria en orina de 24 horas, además de estimar la tasa de Filtrado Glomerular mediante las ecuaciones de Cockcroft- Gault y MDRD-4.

Resultados: Se incluyeron 40 pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2 de menos de

5 años de evolución con promedio de edad: 47.3 ± 9.4 años. El 32.5 % de la población estudiada presentó microalbuminuria con un promedio de 73.9 ± 9.6 mg/ 24 horas.

Conclusión: Nuestros resultados muestran que más del 30% pacientes con DT2, de menos de 5 años de evolución presentan alteraciones de la función renal, lo cual sugiere un inicio temprano del desarrollo del daño renal.

Palabras Clave: Función renal, Microalbuminuria, Nefropatía diabética.

ABSTRACT

Introduction: Chronic kidney disease (CKD) is a global public health problem. Type 2 Diabetes (T2D) is the leading cause associated with CKD, and then is important to evaluate renal function in type 2 diabetes patients. Objective: Evaluate renal function in patients with diagnosis of Type 2 Diabetes of less than 5 years of evolution. Material and methods: A descriptive, observational study was designed in patients with T2D of less than 5 years of evolution, who renal function was evaluated by the determination of serum creatinine, creatinine depuration and microalbuminuria in 24-hour urine, in addition to estimating the Glomerular Filtrate rate by means of the Cockcroft-Gault and MDRD-4 equations. Results: We included 40 patients with Type 2 Diabetes of less than 5 years of evolution with average age: 47.3 ± 9.4 years. 32.5 % of the studied population presented microalbuminuria with an average of 73.9 ± 9.6 mg/ 24 hours. Conclusion: Our results show that more than 30% of patients with DT2, with less than 5 years of evolution, present alterations of renal function, which suggests an early onset of the development of renal damage.

MPSS De Hilario Ramírez Adelal, D.C.Torres Rasgado Enrique¹, M.C. Hernández Hernández María Elenal, M.C. Pulido Pérez Patricia¹, MPSS García Guzmán Belegui Xilloneni, MPSS González Mondragón Ángel Eduardo¹, MPSS Martínez Martínez Karen Alejandra¹, M.C. Ruiz Vivanco Guadalupe¹, PhDPérez Fuentes Ricardo¹, 2., Facultad de Medicina BUAP¹, LIFEC-CIBOR IMSS²

INTRODUCCIÓN.

Se ha reportado que los pacientes con Diabetes Tipo 2 (DT2) pueden progresar hacia complicaciones de tipo microvascular y macrovascular, considerándose a la Nefropatía Diabética (ND) como la más perjudicial [1]. La Enfermedad Renal Crónica (ERC) se define como la presencia durante al menos 3 meses de un filtrado glomerular (FG) inferior a 60 ml/min/1,73 m² o de lesiones renales estructurales o funcionales que puedan provocar potencialmente su descenso. La Enfermedad Renal Diabética (ERD), es tradicionalmente llamada "Nefropatía Diabética" (ND) en la cual existe daño predominantemente de tipo glomerular, con compromiso intersticial en pacientes diabéticos.[2,3] Según la Federación Internacional de Diabetes en 2017, 424.9 millones de personas de 20-79 años tenían diabetes. [6]. La DT2 es la principal causa de ERC como consecuencia del aumento mundial de ésta, produciéndose en el 20-40% de los pacientes con diabetes. [4, 7].

Sólo un subgrupo de pacientes con DT2 desarrolla la ND por lo que existe una susceptibilidad genética a desarrollarla. [1] La hiperglucemia es el componente principal en su desarrollo y los elementos fisiopatológicos que la hiperglucemia ocasiona son: la glucosilación no enzimática con la formación de productos finales de glucosilación avanzada (PGA), ocasionando desarrollo de expansión mesangial, engrosamiento de la membrana basal glomerular y finalmente

glomeruloesclerosis., activación de la vía de los polioles con la formación final de sorbitol, que tiene efectos de estrés oxidativo en las células mesangiales renales y la glucotoxicidad ocasionando hipertrofia de las células mesangiales.[1]

La historia natural de la ERD se caracteriza por hipertensión, aumento de la albuminuria y la disminución de la TFG, con inicio temprano en el curso de la DT2. [4] La fuga de albúmina medida como micro o macroalbuminuria, con 2 de 3 determinaciones positivas en el transcurso de 3 a 6 meses permite realizar el diagnóstico de nefropatía incipiente. [1]

Los pacientes con DT2 desde el momento del diagnóstico deben ser evaluados anualmente para detectar la ERD. [4,7] El cribado debe incluir: determinaciones del índice albúmina/creatinina (IAC) urinaria, albumina en orina de 24 horas, medición de la creatinina sérica y estimación de la GFR, ya que se puede realizar el diagnóstico de Nefropatía incipiente por el aumento de la excreción de albúmina en la orina como Microalbuminuria y Macroalbuminuria.[4]

La función renal se puede evaluar con el cálculo del filtrado glomerular estimado (FGe) mediante fórmulas a partir de la creatinina sérica. La más usada es la fórmula Modification of Diet in Renal Disease de 4 variables (MDRD4) [8] Otra de las fórmulas ideadas es utilizando el método de Cockcroft-Gault que puede ser utilizada para clasificar las etapas de ERC

en base al deterioro de la tasa de filtración glomerular y/o evaluar la intensidad del daño renal. [1] Se ha propuesto un periodo de hiperfiltración en la diabetes que precede a la aparición de la albuminuria y/o la disminución de la función renal. [5,9] Se define hiperfiltración entre 130 y 140 ml/min por cada 1,73m² en sujetos con ambos riñones funcionales.[10]

Al estimar la TFG, de acuerdo con las guías KDIGO 2012 se puede estadiar la ERD en 5 estadios, siendo el G1 la condición normal o alta, y el G5 falla renal. [11]

Objetivo: Evaluar la función renal en pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2 menor a 5 años de evolución.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, observacional, donde se evaluó a pacientes derechohabientes de 20 a 65 años pertenecientes a la Unidad de Medicina Familiar Número 2 del IMSS, con diagnóstico de DT2 de menos a 5 años de evolución que aceptaron participar en el estudio, a los cuales se caracterizaron antropométrica, metabólica y funcionalmente (HOMA-B) además de la función renal, mediante la determinación de creatinina sérica, depuración de creatinina y microalbuminuria en orina de 24 horas, además de estimar la tasa de Filtrado Glomerular mediante las ecuaciones de Cockcroft- Gault y MDRD-4

RESULTADOS.

Se estudiaron 40 pacientes que presentaron una edad promedio de 47.3 ± 9.4 años, promedio de años de evolución de la enfermedad de 2.0 ± 1.5 años. Presentaron un IMC de 30.3 ± 5.2 Kg/m².

La función renal mostró un promedio de microalbuminuria de 31.9 ± 5.6 mg/ 24 horas.(Cuadro 2) estos datos nos permitió identificar a 13 pacientes con un promedio de microalbuminuria de 73.9 ± 9.6 mg/dL con 1.8 ± 0.5 años de evolución de la enfermedad, además de presentar una funcionalidad de la célula beta de $52.6 \pm 7.2\%$.(Cuadro 3)

Con ello podemos observar que el 67.5 % de los pacientes no presentaron Microalbuminuria mientras que el 32.5 % si lo presentaron. (Gráfico 1)

La media de la tasa de filtración glomerular estimada con la fórmula de Cockcroft-Gault fue de 126.4 ± 42.8 mL/min/1.73m², mientras que con la fórmula MDRD-4 fue de 109.2 ± 30.9 mL/min, con una depuración de creatinina de 90.6 ± 44.4 mL/min. Por lo que podemos observar que mediante la fórmula Cockcroft-Gault 32 pacientes se encuentran con TFG normal mientras que 8 con una TFG alterada, mientras que con la fórmula MDRD-4 encontramos a 31 pacientes con TFG normal y 9 con alterada. Por lo que podemos observar que mediante la fórmula Cockcroft-Gault 32 pacientes se encuentran con TFG normal mientras que 8 con una TFG

VARIABLES	(n=40)
Edad (Años)	47.3 ± 9.4
Género (F/M)	26/14
Años de Evolución (Años)	2.0 ± 1.5
IMC (kg/m ²)	30.3 ± 5.2
GC (%)	32.9 ± 8.2
PCi (cm)	97.4 ± 13.3

Cuadro 1. Características demográficas y antropométricas de la población de estudio. Los resultados son expresados como la media \pm DEM. **Abreviaturas:** Índice de Masa Corporal (IMC), Grasa Corporal (GC), Perímetro de Cintura (PCi).

VARIABLES	(n=40)
GA (mg/dL)	146.2 ± 64
Ins (μ U)/MI	19.4 ± 17.7
HbA1c (mg/dL)	7.2 ± 1.9
AU (%)	5.5 ± 1.2
Creat (mg/dL)	0.73 ± 0.2
Microalbuminuria (mg/24 horas)	31.9 ± 5.6

Cuadro 2. Características bioquímicas de la población de estudio. Los resultados son expresados como la media \pm DEM. **Abreviaturas:** Glucosa de Ayuno (GA), Insulina (Ins), Hemoglobina Glucosilada (HbA1c), Ácido Úrico (AU), Creatinina (Creat).

	Micro (-)(n= 27)	Micro (+)(n=13)
Microalb. (mg/24 horas)	11.8 ± 1.4	73.9 ± 9.6
Años Evolución. (años)	2.0 ± 0.3	1.8 ± 0.5
HOMA-B (%)	81.0 ± 8.9	52.5 ± 7.2

Cuadro 3. Comparación entre la población con Micro (-) y Micro (+). Los resultados son expresados como la media \pm DEM. **Abreviaturas:** Microalbuminuria (Micro/ Microalb).

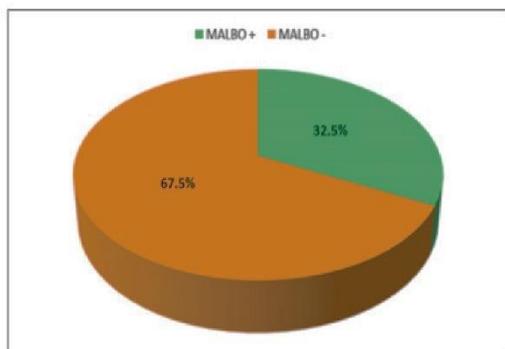


Grafico 1. Porcentaje de Microalbuminuria en la Población de estudio. Abreviaturas: MALBO: Microalbuminuria.

Variables	(n=40)
Cockcroft–Gault (mL/min)	126.4± 42.8
MDRD-4 (mL/min/1.73m2)	109.2± 30.9
Dep. Creat. (mL/min)	90.6 ± 44.4

Cuadro 4. Evaluación de la Función Renal. Los resultados son expresados como la media ±DEM.

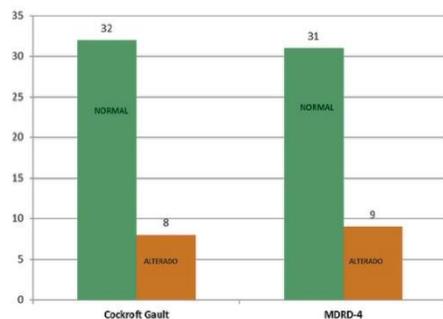


Grafico 2. Estimación de TFG de acuerdo a Fórmulas Cockcroft Gault y MDRD-4.

alterada, mientras que con la fórmula MDRD-4 encontramos a 31 pacientes con TFG normal y 9 con alterada. Conclusiones: Nuestros resultados muestran que los pacientes con DT2 de menos 5 años de evolución clínicamente asintomáticos, presentan alteraciones en el funcionamiento renal aunado a una disminución de la funcionalidad de la Célula Beta. Estas alteraciones se pueden observar debido a que existen pacientes en esta etapa de la enfermedad que presentan Microalbuminuria y Tasa de filtrado Glomerular anormal.

BIBLIOGRAFÍA.

[1] Rosas, J. Prevención, diagnóstico y tratamiento temprano de la Nefropatía Diabética. Consenso de Asociación Latinoamericana de Diabetes ALAD. 2009. [Internet]. VOL. XVII. Nº 3. Consultado el 16/05/2019. Disponible en: <http://www.revistaalad.com/pdfs/0903consenso.pdf>

[2] KDOQI. KDOQI CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR DIABETES AND CKD: 2012 UPDATE. 2012. Internet. (Consultado el 15/05/2019). Disponible en: [https://www.ajkd.org/article/S0272-6386\(12\)00957-2/pdf](https://www.ajkd.org/article/S0272-6386(12)00957-2/pdf)

[3] Secretaría de Salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. (2010). [Internet]. (Consultado el 15/05/2019). Disponible en: http://www.hgm.salud.gob.mx/descargas/pdf/dirgral/marco_juridico/normas/nom_14.pdf

[4] National Kidney Foundation. Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. 2007. VOL 49, NO 2, SUPPL 2. S1-S160.

[5] Mogensen CE, Christensen CK, Vittin-

ghus E. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. 1983. May;32 Suppl 2:64-78. (Consultado el 15/05/2019). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6400670>

[6] Federación Internacional de Diabetes. Atlas de Diabetes de la FID: Estimaciones mundiales de la prevalencia de diabetes para 2017 y proyecciones para 2045.

[7] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2019. Diabetes Care. 2019;42 Suppl 1:S124-S138. Disponible en: http://care.diabetesjournals.org/content/diacare/suppl/2018/12/17/42_Supplement_1.DC1/DC_42_S1_2019_UPDATED.pdf

[8] Burballaa C., Crespo M., Redondo D., et al. MDRD o CKD-EPI en la estimación del filtrado glomerular del donante renal vivo. Rev. NEFRO-352:1-6. Disponible en: <https://www.revistanefrologia.com/es-linkresolver-mdrd-o-ckd-epi-estimacion-del-S02116995173https://www.revistanefrologia.com/es-linkresolver-mdrd-o-ckd-epi-estimacion-del-S021169951730058900589>

[9] Tonneijck L., Muskiet MH., Smits MM, et al Glomerular Hyperfiltration in Diabetes: Mechanisms, Clinical Significance, and Treatment. J Am Soc Nephrol. 2017 Apr;28(4):1023-1039. Disponible en: <https://jasn.asnjournals.org/content/jnephrol/28/4/1023.full.pdf>

[10] Cachat F, Combescure C, Cauderay M, et al. A systematic review of glomerular hyperfiltration assessment and definition in the medical literature. 2015. Clin JAm Soc Nephrol 10: 382-389.

[11] Kidney Diseases Improving Global outcome. 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. VOL 3, ISSUE 1, JANUARY 2013.

Frecuencia de síndrome de ovario poliquístico en pacientes con hiperglucemia.

MPSS González Mondragón Ángel Eduardo¹, D.C. Torres Rasgado Enrique¹, MPSS García Guzmán Belegui Xillonen¹, MPSS De Hilario Ramírez Adela, MPSS Martínez Martínez Karen Alejandra¹, M.C. Pulido Pérez Patricia¹, M.C. Hernández Hernández María Elena¹, M.C. Ruiz Vivanco Guadalupe¹, Ph.D. Pérez Fuentes Ricardo²

RESUMEN. Introducción: El síndrome de Ovario Poliquístico (SOP), es un trastorno endocrinológico que afecta a mujeres en edad reproductiva. Su etiología es incierta y se manifiesta por síntomas y signos variados. Entre ellos irregularidades menstruales, hiperandrogenismo, obesidad, infertilidad, resistencia insulínica (RI) y el aspecto poli-quístico de los ovarios en ultrasonografía. Objetivo: Determinar la frecuencia de Síndrome de Ovario Poliquístico en pacientes con hiperglucemia. Material y Método: Se realizó un estudio observacional, Descriptivo, retrolectivo y unicéntrico en 885 mujeres derechohabientes de la UMF2, IMSS-Puebla. Se caracterizaron clínicamente, antropométrica y metabólicamente. Para determinar la Hiperglucemia se consideraron los valores de glucosa en ayuno > 100 mg/dL y la tolerancia oral a la glucosa mayor a 140 mg/dL. Resultados: Del 100% (n=885) de la población incluida en el estudio, 53.4% (n=473) presentaron normoglucemia (NG) y el 46.6% (n=412) presentó Hiperglucemia (HG); en cuanto al diagnóstico de Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP+) se encontró en el 16.8% (n=149) de la muestra. Del 46.6% (n=412) de los pacientes en los que se determinó que existía hiperglucemia se observó que 347 no presentaban SOP contra 65 que habían sido diagnosticados con SOP. Conclusión: Nuestros resultados muestran que el SOP no es padecimiento frecuente en los pacientes con disglucemia, sin embargo, se observan alteraciones antropométricas y metabólicas.

ABSTRACT

Introduction: Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is an endocrine disorder affecting women of reproductive age. Its etiology is uncertain and is manifested by various symptoms and signs. These include menstrual irregularities, hyperandrogenism, obesity, infertility, insulin resistance (IR) and the polycystic aspect of the ovaries in ultrasonography. Objective: To determine the frequency of Polycystic Ovary Syndrome in patients with hyperglycemia. Material and Method: An observational, descriptive, retrolective and unicentric study was performed in 885 women entitled to UMF2, IMSS-Puebla. They were characterized clinically, anthropometrically and metabolically. Fasting glucose values > 100 mg/dL and oral glucose tolerance greater than 140 mg/dL were considered to determine hyperglycemia. Results: Of the 100% (n=885) of the population included in the study, 53.4% (n=473) presented normoglycemia (NG) and 46.6% (n=412) presented Hyperglycemia (HG); as for the diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS+) was found in 16.8% (n=149) of the sample. Of the 46.6% (n=412) of the patients in whom hyperglycemia was determined to exist, 347 did not present PCOS against 65 who had been diagnosed with PCOS. Conclusion: Our results show that PCOS is not frequent in patients with dysglucemia, however, anthropometric and metabolic alterations are observed.

Keywords: PCOS, endocrine disorder, hyperglycemia.

¹Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ²Laboratorio de Investigación en Fisiopatología de Enfermedades Crónicas, Centro de Investigación Biomédica de Oriente.

INTRODUCCIÓN.

El síndrome de Ovario Poliquístico (SOP), es un trastorno endocrinológico que afecta a mujeres en edad reproductiva. [1] Es la causa más común de hiperandrogenismo con una incidencia de un 3% tanto en mujeres adolescentes como adultas. Se estima, que está presente en el 75% de las mujeres con hirsutismo y en el 10% de las mujeres premenopáusicas. Su etiología es incierta y se manifiesta por síntomas y signos variados que afectan a cada mujer en forma particular. [2]

Fue descrito por primera vez en 1935 por Irvin Stein y Michael Leventhal en siete mujeres en las cuales observo un engrosamiento de la túnica albugínea y microquistes múltiples situados periféricamente en la zona subcortical ovárica.[3] Con la aparición de la ultrasonografía se pudo establecer que las mujeres sanas podían presentar imágenes ultra-sonográficas sugerentes de ovarios poliquísticos sin el síndrome clínico, y por otro lado pacientes con el síndrome clínico no se observaban las imágenes típicas.[4] En 1990, se le definió como la “presencia de hiperandrogenismo asociado a anovulación crónica sin otra causa específica que curse con irregularidades menstruales o exceso de andrógenos”[5]. En 2003 en una reunión realizada en Rotterdam postulo a la disfunción ovulatoria, el hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico y el aspecto ecográfico de los ovarios (Morfología de Ovario Poliquístico, MOP) como elementos diagnósticos

para definir esta entidad, dando origen a numerosos fenotipos [6,7].

Es un trastorno heterogéneo que varía desde su presentación clásica [8], descrita con obesidad, amenorrea e hirsutismo, hasta mujeres con ciclos normales e incluso en algunos casos, con ovarios ecográficamente normales. La hipótesis más aceptable sugiere un sinergismo entre la elevación de Hormona Luteinizante (LH) e insulina, lo cual termina por provocar en el ovario, atresia folicular e incapacidad para la formación de estrógenos. En este contexto, la hiperestimulación ovárica por la insulina, provocaría hiperandrogenismo [9].

Estudios realizados en células tecales provenientes de mujeres con SOP comparadas con controles no hiperandrogénicas, evidenciaron un aumento de la secreción de andrógenos, sugiriendo que el hiperandrogenismo es un defecto central primario en el SOP [10]. También se ha observado un defecto neuroendocrino con aumento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH que inhibe la síntesis de FSH provocando un aumento en la síntesis de andrógenos en los ovarios. La inadecuada estimulación por parte de la FSH contribuye al cese de la maduración de los folículos ováricos y a la anovulación, incrementando a su vez el estroma ovárico. [11,12]

La resistencia a la insulina no es un hallazgo presente en todas las mujeres que presentan SOP, pues aparece en el 60 % de estas [13]. La resistencia a la insulina a nivel de los te-

jididos es producida por una alteración intrínseca a nivel post-receptor [13], produciendo una incapacidad para la utilización de la glucosa por los tejidos periféricos, provocando hiperglucemia e hiperinsulinismo compensatorio. Sin embargo, a pesar que en las mujeres con SOP existe una resistencia a la insulina en el tejido adiposo y músculo esquelético, en términos de captación de glucosa, el ovario sigue siendo sensible a la insulina en cuanto a su respuesta hormonal.

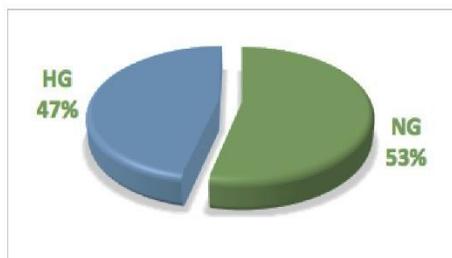
Entre los factores individuales que podrían influir en el estado de resistencia a la insulina en pacientes con SOP puede atribuirse un papel importante a la obesidad. Las concentraciones de insulina, tanto en ayunas como tras la estimulación con glucosa, son significativamente más elevadas en los subgrupos de SOP con obesidad que sin obesidad.[15]

OBJETIVO.

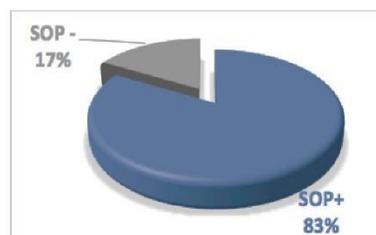
“Determinar la Frecuencia de Síndrome de Ovario Poliquístico en pacientes con Hiperglucemia”

MATERIA Y MÉTODO.

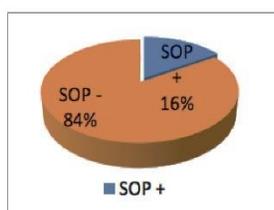
Se realizó un estudio observacional, Descriptivo, retrolectivo y unicéntrico en 885 mujeres derechohabientes de la UMF2, IMSS-Puebla. Se caracterizaron clínicamente, antropométrica y metabólicamente. Para determinar la disglucemia se consideraron los valores de glucosa en ayuno mayor de 100 mg/dL y la tolerancia oral a la glucosa mayor a 140 mg/dL Se conformarán 2 grupos: Síndrome de Ovarios Poliquísticos positivo (SOP+)



Gráfica 1. Pacientes con Normoglucemia (n=473) VS pacientes con Hiperglucemia (N=412)



Gráfica 2. Pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (n=149) VS pacientes sin Síndrome de Ovario Poliquístico (n=736)



Gráfica 3. Pacientes disglucémicos con Síndrome de Ovario Poliquístico (n=347) VS pacientes Hiperglucémicos sin Síndrome de Ovario Poliquístico (n=65)

VARIABLES	SOP(-) (n=347)	SOP (+) (n=65)
Edad (Años)	38.4 ± 10.8	47.8 ± 10.9*
IMC (Kg/m ²)	27.3 ± 4.8	31.4 ± 6.0*
PCi (cm)	88.8 ± 10.4	100 ± 13.1*
GC (%)	33.9 ± 7.2	39.2 ± 6.5*

Cuadro 1. Características socio-demográficas y antropométrica. Los resultados son expresados como la media ± DEM. Abreviaturas; Dx: Diagnostico. IMC: Índice de Masa Corporal. PCi: Perimetro de Cintura. GC: Grasa Corporal.

VARIABLES	SOP(-) (n=347)	SOP (+) (n=65)
GA (mg/dL)	88.1 ± 6.3	115.9 ± 41.5*
G2H (mg/dL)	103.8 ± 4.8	156.5 ± 45.4*
Col (mg/dL)	189.7 ± 40.5	196.3 ± 36.6*
TGL(mg/dL)	122.8 ± 51.7	173.3 ± 6.5*
Ins (μU/mL)	8.3 ± 4.8	15.46 ± 11.8
HOMA-IR	1.7 ± 1.1	4.0 ± 3.3

Cuadro 2. Características metabólicas de la población de estudio. Los resultados son expresados como la media ± DEM. Abreviaturas; GA: Glucosa de Ayuno, G2H: Glucosa de 2 Horas, COL., TGL: Triglicéridos, INS: Insulina. *p<0.05; t-student

y Síndrome de Ovarios Poliúísticos negativo (SOP-).

RESULTADOS.

Del 100% (n=885) de la población incluida en el estudio, 53.4% (n=473) presentaron normoglucemia (NG) y el 46.6% (n=412) presentó disglucemia (DISG). (Grafica 1); en cuanto al diagnóstico de Síndrome de Ovario Poliúístico (SOP+) se encontró en el 16.8% (n=149) de la muestra. (Grafica 2).

Del 46.6 % (n=412) de los pacientes en los que se determinó que existía alteración en el metabolismo de los carbohidratos (Disglucemia) se observó que 347 no presentaban síndrome de Ovario Poliúístico contra 65 que habían sido diagnosticados con Síndrome de Ovario Poliúísticos. (Grafica 3)

De la caracterización sociodemográfica y antropométrica de los pacientes con disglucemia se obtuvieron los siguientes resultados. (Tabla 1)

También se realizó la caracterización Metabólica de estos reportando las siguientes cifras. (Grafica 2)

CONCLUSIONES.

Nuestros resultados muestran que el Síndrome de Ovario Poliúístico no es padecimiento frecuente en los pacientes con Hiperglucemia, sin embargo, se observan alteraciones antropométricas y metabólicas. Se requieren estudios prospectivos para determinar la causalidad del SOP en este padecimiento.

REFERENCIAS.

[1] M.O. Goodarzi, M.J. Quinones, R. Azziz, J.I. Rotter, W.A. Hsueh, Yang H: Polycystic ovary syndrome in Mexican-Americans: pre-

valence and association with the severity of insulin resistance

[2] v Diamanti-Kandarakis E., Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications.. Endocr Rev, 33 (2012), pp. 981-1030

[3] Stein I, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol. 1935;29:181-91

[4] Polson DW, Adams J, Wadsworth J, et al. Polycystic ovaries: a common finding in normal woman. Lancet 1988; 1:870-872

[5]. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rationale approach. En: Polycystic Ovary Syndrome, ed. por Dunaif A, Givens J R, Haseltine F, Merriam G R, Boston: Blackwell, 1992: 377-384.

[6]ESHRE/ASRM Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health

risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81:19-25.

[7]The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS Consensus Workshop Group Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19:41-47.[11] Stein IF. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *American J Obst and Gynecol*1935; 91 - 181.

[8]Poretsky L. Insulin resistance and hyperandrogenism: Update 1994. *Endoc Rev* 1994; 2: 26-3

[9]Escobar-Morreale HF. Etiología del síndrome del ovario poliquístico. *Endocrinol Nutr.* 2006; 53 (1): 7-14.

[10]Gallardo Guerra MJ, Cuixart Costa L, Fuentes Rodríguez S. Síndrome de ovario poliquístico. *Fisterra Guías Clínicas* 2006; 6 (22): 1-7

[11]Hall JE, Taylor AE, Hayes FJ, Crowley WF. Insights into hypothalamic-pituitary dysfunction in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;21:602-611.

[12] Ehrman DA, Barnes RB, Rosenfield RL. Polycystic ovary syndrome as a form of functional ovarian hypandrogenism due to dysregulation of androgen secretion. *Endocr Rev.* 1995;16(3):322-353.

[13] Gambineri A, Pelusi C, Vicennati V, Pagotto U, Pasquali R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int J Obes Relat Metab Dis.* 2002; 26:883-96.

[14] Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implications for pathogenesis. *Endocr Rev.* 1997;18:774- 800.

[15]Lewy VD, Danadian K, Witchel SF, Arslanian S. Early metabolic abnormalities in adolescent girls with polycystic ovarian syndrome. *J Pediatr.* 2001;138:38-44.

Asociación entre la Acanthosis Nigricans y resistencia a la insulina en pacientes con Diabetes Tipo 2.

Vázquez Páez María Fernanda¹, MC. Pulido Pérez Patricia², PhD. Perez Fuentes Ricardo¹, 2, MC Ruiz Vivanco Guadalupe¹, 2, MC. Hernández Hernández María Elena¹, 2, MPSS González Mondragón Ángel Eduardo¹, MPSS De Hilario Ramírez Adela¹, MPSS Martínez Martínez Karen Alejandra¹, DC. Enrique Torres Rasgado¹.

RESUMEN. Introducción: Se ha demostrado que la Acanthosis Nigricans (AN) es utilizado como un signo predictor de resistencia a la insulina (RI) y que es un marcador clínico para reconocer eventos metabólicos como la diabetes tipo 2. Objetivo: Determinar la asociación entre la acantosis Nigricans y resistencia a la insulina en pacientes con diabetes tipo 2. Material y Métodos: Se diseñó un estudio de tipo descriptivo, observacional, analítico, unicéntrico y prospectivo, donde se evaluó a pacientes derechohabientes de 18 a 65 años pertenecientes a la Unidad Médico Familiar Número 2 del IMSS, con diagnóstico de Diabetes Tipo 2. Se caracterizo antropométricamente (IMC, PCi), bioquímicamente (GA, Insa, HbA1c) y clínicamente (TAS, TAD) a la población de estudio. La resistencia a la insulina se evaluó por medio del modelo matemático HOMA-IR siendo considerado como RI+ cuando el valor de HOMA-IR fue > de 2.5, mientras que la AN fue determinada mediante la evaluación clínica. Resultados: Del 100% (n=47) de la población incluida en el estudio, el 40% (n=19) presentó Acanthosis Nigricans positivo (ACN+), mientras que el 60% (n=28) fue ACN-, no presentando diferencias significativas ($X^2=1.723$, $p=0.189$). Y del 100% (n=47) de la población incluida en el estudio, 62% (n=29) presenta Re-

sistencia a la Insulina y el 38% (n=18) no presento RI, sin diferencias significativas ($X^2=2.574$, $p=0.109$). Finalmente en nuestro estudio no se observo una asociación entre la acantosis Nigricans y la resistencia a la insulina ($X^2=0.609$; $p=0.435$).

Conclusiones: Los pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2, no se caracterizan principalmente por la manifestación de Acanthosis Nigricans consecuente de la Resistencia a la Insulina, así como, tampoco se caracterizan por la presencia de Resistencia a la Insulina.

Conclusiones: Los pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2, no se caracterizan principalmente por la manifestación de Acanthosis Nigricans consecuente de la Resistencia a la Insulina, así como, tampoco se caracterizan por la presencia de Resistencia a la Insulina.

ABSTRACT

Introduction: It has been demonstrated that Acanthosis Nigricans (AN) is used as a predictor of insulin resistance (IR) and that it is a clinical marker to recognize metabolic events such as type 2 diabetes. Objective: To determine the association between acanthosis nigricans and insulin resistance in patients with type 2 diabetes. Material and Methods: A descriptive, observational, analytical, unicentric and prospective study was designed, where patients entitled from 18 to 65 years belonging to the Family Medical Unit Number 2 of the IMSS were evaluated, diagnosed with Type 2 Diabetes. I characterize anthropometrically (BMI, PCi), biochemically (GA, Insa, HbA1c) and clinically (TAS, TAD) the study population. Insulin resistance was evaluated using the HOMA-IR mathematical model, which was considered RI + when the HOMA-IR value was > 2.5, while AN was determined by clinical evaluation. Results: Of 100% (n = 47) of the population included in the study, 40% (n = 19) presented Acanthosis Nigricans positive (ACN +), while 60% (n = 28) was ACN-, not presenting significant differences ($X^2 = 1.723$, $p = 0.189$). And of 100% (n = 47) of the population included in the study, 62% (n = 29) had Insulin Resistance and 38% (n = 18) did not present RI, without significant differences ($X^2 =$

2.574, $p = 0.109$). Finally, in our study there was no association between acanthosis Nigricans and insulin resistance ($X^2 = 0.609$, $p = 0.435$). Conclusions: Patients diagnosed with Type 2 Diabetes are not characterized mainly by the manifestation of Acanthosis Nigricans consequent to Insulin Resistance, nor are they characterized by the presence of Insulin Resistance.

INTRODUCCIÓN.

Diabetes Tipo 2 es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia debida a defectos en la secreción o acción de la insulina.

La diabetes se está convirtiendo en la epidemia del siglo XXI y en un reto de salud a nivel global. El número de personas que padecen esta enfermedad está en aumento debido al crecimiento de la población, el envejecimiento, la urbanización y el aumento de la prevalencia de la obesidad y la inactividad física. [1]

Las últimas estimaciones superan las proyecciones hechas por estimaciones anteriores. En 1998, King et al. proyectó que el número de adultos con diabetes alcanzaría los 300 millones para 2025; y en 2004, la OMS estimó que para 2030 la cantidad excedería los 366 millones. [2] En México según INEGI 2016, se colocó como la segunda causa de mortalidad, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. Se encontró que la prevalencia de diabetes en el país pasó de 9.2% en 2012 a 9.4% en 2016, esto en base a un diagnóstico previo de la enfermedad. [3]

Estas alarmantes proyecciones nos

han orillado al desarrollo e implementaciones de estrategias en el tratamiento y prevención para combatir el agravamiento de la prevalencia de esta enfermedad.

La Diabetes Tipo 2 (DMT2) es una enfermedad metabólica compleja en la que la fisiopatología implica una interacción entre la predisposición genética y factores externos. [4]

Los sujetos manifiestan múltiples trastornos en la homeostasis de la glucosa, que incluyen:

(1) secreción de insulina alterada; (2) resistencia a la insulina en músculo, hígado y adipocitos; y (3) anomalías en la captación de glucosa. [5]

La secreción de insulina disminuida se encuentra de manera homogénea en pacientes con diabetes tipo 2.

Al principio de la historia natural de la enfermedad, la resistencia a la insulina está bien establecida, pero la tolerancia a la glucosa se mantiene normal debido a un aumento compensatorio en la secreción de insulina. [4]

Es decir, el comienzo de la Diabetes

Tipo 2 es con una la tolerancia normal a la glucosa, la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria, con una progresión en la disminución en la Tolerancia la Glucosa (IGT), dando como resultado el manifiesto de la enfermedad. [5] Otro mecanismo en la fisiopatología de la DMT2 es la inducción de la resistencia a la insulina del músculo esquelético, hepático y del tejido adiposo. Este se manifiesta como una reducción en la capacidad de la insulina para activar la cascada de señalización de la insulina celular y, en consecuencia, estimular los procesos celulares mediados por la insulina. Dado que el músculo esquelético es el principal órgano responsable de la eliminación posprandial de la glucosa, la resistencia a la insulina en el músculo esquelético restringe severamente la capacidad de depuración de la glucosa en estos pacientes. [4] A nivel celular, la resistencia a la insulina muscular se expresa debido a:

- 1) Deterioro del reclutamiento mediado por la insulina de las proteínas transportadoras de glucosa GLUT4 a la membrana plasmática,
- 2) Disminución de la capacidad de almacenamiento de glucógeno,
- 3) reducción de la oxidación de la glucosa y
- 4) función mitocondrial alterada.

En el hígado, la resistencia a la insulina se asocia con una excesiva producción de glucosa hepática durante el ayuno, atribuida en parte a la falla de la supresión de la gluconeogénesis mediada por la insulina.

Finalmente, la resistencia a la insulina en el tejido adiposo se caracteriza por un transporte defectuoso de la glucosa mediado por la insulina, una menor capacidad para la captación de lípidos y una falla en la supresión de la lipólisis y la inflamación, lo que resulta en un aumento de los ácidos grasos libres en plasma y citoquinas. [4]

Debido al aumento de la prevalencia de obesidad y diabetes, recientemente se ha observado una alta prevalencia de Acantosis Nigricans. [7] Esta patología es un engrosamiento ateropelado papilomatoso, generalmente marrón pardusco, de la epidermis que afecta principalmente las axilas, el pliegue posterior del cuello, las superficies flexoras de la piel, el ombligo y, ocasionalmente, las superficies de la mucosa, caracterizados histopatológicamente por papilomatosis e hiperqueratosis de la piel. [8, 7] Otras áreas que pueden estar involucradas son conjuntivas, labios, párpados, flexor y superficie extensor de los codos y rodillas, nudillos: cara dorsal, genitales externos, areola, cara interna de los muslos y el ano. En algunos casos, especialmente cuando se asocia con tumores malignos, la Acantosis Nigricans puede interesar a la mucosa de la cavidad oral, el esófago, la nariz o la laringe. [9]

Son complejos los mecanismos por los cuales la resistencia a la insulina causa Acantosis Nigricans. La resistencia severa a la insulina produce hiperinsulinemia compensatoria. Las cantidades séricas excesivas de esta hormona, interactúan con los receptores del factor de crecimiento 1 similar a la insulina (IGF-1) (IGFR) en los tejidos periféricos dando lugar a la proliferación de queratinocitos y fibroblastos. [6] Existen tres métodos bien conocidos para evaluar la Resistencia a la Insulina llamadas pruebas dinámicas como la pinza Euglucémica hiperinsulinémica, la evaluación del modelo de homeostasis de IR (HOMA-IR), y marcadores bioquímicos como la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 1. [11]

La Evaluación del Modelo de Homeostasis de IR (HOMA-IR) ha demostrado ser una herramienta amplia para la evaluación de la Resistencia a la Insulina. [10]

OBJETIVO.

Identificar la relación de resistencia a la insulina con Acantosis nigricans en pacientes con Diabetes Tipo 2.

Material y Métodos:

Se diseñó un estudio de tipo descriptivo, observacional, unicéntrico y prospectivo, donde se evaluó a pacientes derechohabientes de 18 a 65 años pertenecientes a la Unidad Médico Familiar Número 2 del IMSS, con diagnóstico de Diabetes Tipo 2 de menos a 5 años de evolución. El proyecto estuvo diseñado a realizarse en 5 eta-

pas: Etapa 1. Identificación, invitación, información y firma de consentimiento informado para la participación en el proyecto de investigación clínica. Para ello una vez seleccionado el paciente, se realizará una primera entrevista de sensibilización que incluirá una explicación de los objetivos y los beneficios que se esperan obtener en el estudio. A los pacientes que decidan participar se les asignará una cita para la clasificación antropométrica. Etapa 2. Caracterización antropométrica. Una vez que se haya realizado la firma de la Carta de Consentimiento Informado para la participación del proyecto de investigación clínica se procederá a realizar la caracterización antropométrica la cual incluirá la medición de peso en (Kg) y estatura en (m.) para poder realizar el cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC) (Kg/m²) a través del equipo TANITA y Perímetro de Cintura. Etapa 3. Caracterización Metabólica considerando a la glucosa de ayuno (GA), Hemoglobina Glucosilada (HbA1c) e insulina (Ins). Para lo que se requirió toma de muestra sanguínea en Ayuno de máximo 8 horas. Etapa 4. Realizar el cálculo de "Homeostasis Model Assessment" (HOMA-IR) a través de la calculadora "HOMA Calculator v 2.2.3". Etapa 5: Análisis estadístico. En esta etapa se procederá a realizar una base de datos para poder llevar a cabo el análisis estadístico de la población.

RESULTADOS.

Del 100% (n=47) de la población incluida en el estudio, el 40% (n=19) presentó Acantosis Nigricans positivo

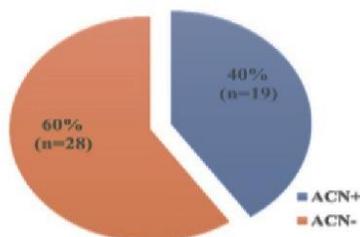


Gráfico 1: Distribución de ACN + (Acantosis Nigricans Positivo), ACN – (Acantosis Nigricans Negativo) en la población de estudio.

Variables	ACN +	ACN -
Edad (años)	48 ± 1.71	46.7 ± 1.84
Género (F/M)	10/9	22/10
TAS (mmHg)	128.08 ± 4.35	116.7 ± 2.82
TAD (mmHg)	78.01 ± 2.24	72.8 ± 1.68
IMC (Kg/m ²)	32.37 ± 1.09	28.8 ± 0.93 *
GC(%)	32.91 ± 2.12	34 ± 1.37
PCI (cm)	103.97 ± 1.96	93.5 ± 2.50 *
ICC	1.003 ± .012	0.96 ± 0.01
ICT	0.65 ± 0.013	0.59 ± 0.01 *

Tabla 1: Características demográficas y antropométricas de la población de estudio. Los valores son mostrados como medias y desviaciones estándar. * p<0.05; t-student. Abreviaturas, TAS; Tensión Arterial Sistólica, TAD; Tensión Arterial Diastólica; IMC; Índice de Masa Corporal, GC; Grasa Corporal, PCI; Perímetro de cintura, ICC; Índice de cintura-cadera, ICT; Índice de cintura-talla.

Tabla 2: Características metabólicas de la población de estudio. Los valores son mostrados como medias y desviaciones estándar. Abreviaturas, TGC; Triglicéridos, Hb1ac; Hemoglobina Glicosilada

Variables	ACN +	ACN -
Hb1ac %	7.60 ± 0.55	7.15 ± 0.25
Glucosa (mg/dl)	160 ± 18.8	144.2 ± 8.78
TGC (mg/dl)	287.7 ± 76.8	224.2 ± 31.4
Insulina	22.3 ± 4.70	16.60 ± 2.67
HOMA-IR	43.4 ± 40.6	11.09 ± 9.00
HOMA-B(%)	90.2 ± 14.7	123.1 ± 52.3
HOMA-IS(%)	49.09 ± 6.71	64.6 ± 8.21
QUICKI	0.29 ± 0.005	0.31 ± 0.005

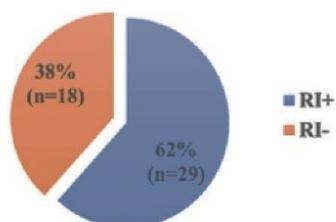


Gráfico 2: Distribución de RI + (Resistencia a la Insulina Positivo), RI – (Resistencia a la Insulina Negativo) en la población de estudio.

Tabla 3: Características demográficas y antropométricas de la población de estudio. Los valores son mostrados como medias y desviaciones estándar. * p<0.05; t-student. Abreviaturas, TAS; Tensión Arterial Sistólica, TAD; Tensión Arterial Diastólica; IMC; Índice de Masa Corporal, GC; Grasa Corporal, PCI; Perímetro de cintura, ICC; Índice de cintura-cadera, ICT; Índice de cintura-talla.

Variables	RI +	RI -
Edad (años)	48.1 ± 1.70	45.4 ± 1.93
Género (F/M)	20/9	12/6
TAS	121.1 ± 2.69	121.5 ± 5.13
TAD	75.3 ± 1.37	74.3 ± 2.9
IMC (Kg/M²)	31.2 ± 0.95	28.6 ± 1.14 *
GC(%)	34.8 ± 1.62	31.5 ± 1.52
PCI (cm)	99.8 ± 2.05	94.2 ± 3.38 *
ICC	0.88 ± 0.01	0.96 ± 0.02
ICT	0.64 ± 0.01	0.58 ± 0.18 *

Variables	RI +	RI -
Hb1ac %	7.51 ± 0.40	7.05 ± 0.27
Glucosa (mg/dl)	155.1 ± 13.7	143.2 ± 9.52
TGC(mg/dl)	266.9 ± 50.1	222.4 ± 4.58
Insulina	25.06 ± 3.52	9.05 ± 1.31
HOMA-IR	38.5 ± 27.7	1.14 ± 0.06
HOMA-B(%)	144.7 ± 50.2	53.65 ± 8.60
HOMA-IS(%)	36.6 ± 3.55	95.12 ± 8.24
QUICKI	0.29 ± 0.004	0.32 ± 0.004

Tabla 4: Características metabólicas de la población de estudio. Los valores son mostrados como medias y desviaciones estándar. Abreviaturas, TGC; Triglicéridos, Hb1ac; Hemoglobina Glicosilada

	AN (+)	AN (-)	X ²	Pvalor
RI (+)	13	16	0.609	0.435
RI (-)	6	12		

Cuadro 1: Asociación de Acantosis Nigricans y Resistencia a la Insulina.

(ACN+), mientras que el 60% (n=28) fue ACN- (Ver Gráfico 1).

Nuestros resultados no mostraron diferencias significativas cuando se comparó la edad en los pacientes con ACN+ versus los pacientes sin ACN. (48.0 ± 7.4 vs 46.8 ± 9.8, años, p>0.05). Así como también se observó una mayor frecuencia del género Femenino 52.6% (n=10). Al analizar

los datos antropométricos los pacientes con ACN+ presentaron alteración del IMC cuando se compararon con los pacientes sin ACN- (32.4 ± 1.1 vs 28.8 ± 0.9, Kg/m²) y un mayor perímetro de cintura (104 ± 2 vs 93.5 ± 2.50) (ver Tabla 1).

En la evaluación de las características metabólicas de la población de estudio, se encontró un aumento de

los niveles de Glucosa, Hb1ac%, Triglicéridos e insulina en pacientes que resultaron ser positivos a la presencia de Acantosis Nigricans; así como también se observaron elevaciones significativas en el HOMA-IR, y disminuciones en HOMA-B (%) y HOMA-IS (%) (ver Tabla 2.)

Del 100% (n=47) de la población incluida en el estudio, 62% (n=29) pre-

senta Resistencia a la Insulina (RI). (verGráfico2)

Nuestros resultados no mostraron diferencias significativas cuando se comparó la edad en los pacientes con RI+ versus los pacientes sin RI. (48.1 ± 1.70 vs 45.4 ± 1.93 , años, $p > 0.05$). Así como también se observó una mayor frecuencia del género Femenino 69% ($n=20$). Al analizar los datos antropométricos los pacientes con RI+ presentaron alteración del IMC cuando se compararon con los pacientes sin RI- (31.2 ± 0.95 vs 28.6 ± 1.14 , Kg/m²) y un mayor perímetro de cintura (100 ± 2.05 vs 94.2 ± 3.38) (v. Tabla 3).

En la evaluación de las características metabólicas de la población de estudio, se encontró un aumento de los niveles de Glucosa, Hb1ac%, Triglicéridos e insulina en pacientes con Resistencia a la Insulina positiva; así como también se observaron elevaciones significativas en el HOMA-IR y en el HOMA-B (%), con una disminución en el HOMA IS (%) (ver Tabla 4)

Como se observó en el Cuadro 1, no hay asociación entre las variables Acantosis Nigricans y Resistencia a la Insulina, debido a que de un total de 19 personas con ACN +, sólo 13 personas presentan RI+.

CONCLUSIÓN.

El estudio muestra que los pacientes con diagnóstico de Diabetes Tipo 2, no se caracterizan principalmente por

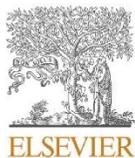
la manifestación de Acantosis Nigricans consecuente de la Resistencia a la Insulina, así como, tampoco se caracterizan por la presencia de Resistencia a la Insulina. Por lo tanto, no existe asociación entre Acantosis Nigricans y Resistencia a la Insulina.

REFERENCIAS.

- [1] Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 [citado 5 de Junio de 2019] ;27:1047–1053.
- [2] Guariguata I, Whiting dr, Hambleton i, Beagley j, Linnenkamp u, Shaw je, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*. [Internet]. 2014 [citado 5 de Junio de 2019]; 103: 137-149.
- [3] Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016.

13.3 Artículos científicos indizados

1. **Pulido-Perez P**, Torres-Rasgado E, Pérez-Fuentes R, Rosales-Encina JL, Rodríguez-Antolín J, Romero JR. *Disordered glycemic control in women with type 2 diabetes is associated with increased TNF receptor-2 levels*. J Diabetes Complications. 2021;35(9):107974. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2021.107974.
2. **Pulido-Perez P**, Pondigo-de Los Angeles JA, Hernandez-Hernandez ME, Torres-Rasgado E, Romero JR. *Renal function, serum magnesium levels and mortality in COVID-19 patients with type 2 diabetes*. Magnes Res. 2021;34(1):20-31. doi: 10.1684/mrh.2021.0481.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Diabetes and Its Complications

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jdiacomp

Disordered glycaemic control in women with type 2 diabetes is associated with increased TNF receptor-2 levels

Patricia Pulido-Pérez^{a,b,c,d}, Enrique Torres-Rasgado^{b,c,e,*}, Ricardo Pérez-Fuentes^{c,e},
José Luis Rosales-Encina^d, Jorge Rodríguez-Antolín^f, Jose R. Romero^b

^a Doctorate in Biological Science, Autonomous University of Tlaxcala, Mexico

^b Division of Endocrinology, Diabetes and Hypertension, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

^c Center for Biomedical Research East, Mexican Social Security Institute of Puebla, Mexico

^d Department of Infectomics and Molecular Pathogenesis, Center for Research and Advanced Studies, National Polytechnic Institute, Mexico

^e Faculty of Medicine, Autonomous University of Puebla, Mexico

^f Tlaxcala Center for Biology of Behavior, Autonomous University of Tlaxcala, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Soluble TNF system
sTNFR2
Disordered glycaemic control
Sex difference
Type 2 diabetes

ABSTRACT

Background: Evidence implicates tumor necrosis factor (TNF) in the pathophysiology of Type 2 Diabetes (T2D) through unclear mechanisms. We hypothesized that disordered glycaemic control leads to TNF activation and increases in soluble-TNF (sTNF) and its receptors-1 (sTNFR1) and -2 (sTNFR2).

Methods: We characterized 265 T2D and non-diabetic Latin American subjects and assessed the relationship between the TNF system and fasting plasma glucose (FPG), hemoglobin-A1C (A1C), insulin (FPI), C-peptide and HOMA-Beta.

Results: sTNF and sTNFR2 but not sTNFR1 levels were higher in T2D than non-diabetics ($P < 0.0001$). In T2D, sTNFR2 was associated with A1C and C-peptide ($R^2 = 0.354$, $b = -0.504$, $P < 0.0001$; $b = -0.167$, $P = 0.049$). Also, T2D patients with disordered glycaemic control had increased sTNFR2 levels that correlated with FPG (Rho:0.393, $P < 0.001$), A1C (Rho:0.451, $P < 0.001$) and HOMA-Beta (Rho:-0.308, $P = 0.005$); events not observed in T2D patients with adequate glycaemic control. Furthermore, sex-based comparative analyses of T2D patients showed that women compared to men had higher sTNFR2 levels ($P = 0.017$) that correlated with FPG, A1C, FPI and HOMA-Beta.

Conclusions: Disordered glycaemic control is associated with sTNF and sTNFR2. sTNFR2 levels were higher in T2D women than men. Thus, increased sTNFR2 levels may be an important biomarker for disordered glucose and inflammatory complications in T2D patients and women in particular.

1. Introduction

Latin American/Hispanic women and men are 1.7 times more likely than white adults to have T2D and 1.4 times more likely than whites to die from diabetic complications.¹ Reports show that the prevalence, progression and pathophysiology of vascular complications of T2D differ by sex.² However, the mechanisms to explain these sex differences are unclear and remain largely unexplored among Latin Americans/Hispanic subjects.

Studies have shown that Tumor Necrosis Factor (TNF, also known as TNF α) is a key inflammatory cytokine in the pathophysiology of T2D that plays a role in glucose homeostasis, insulin resistance and the

development of diabetic complications.^{3,4} TNF is a multifunctional cytokine regulating several functions including immune responses, cellular proliferation, apoptosis, viral replication and autoimmunity.⁵ It is principally produced by immune cells such as macrophages/monocytes and by adipocytes, fibroblasts, hepatocytes, as well as muscle and endothelial cells.⁶ Biologically active human TNF exists as a 26 kDa membrane-bound protein, which is shed from the membrane by actions of the metalloproteinase TNF converting enzyme (TACE/ADAM 17) to release a homotrimeric soluble TNF form (sTNF, monomeric 17-kDa).⁷ TNF exerts its activities by binding to TNF receptor-1 and -2 (TNFR1 [also known as TNSF1A or CD120a] and TNFR2 [also known as TNSF1B or CD120b]), leading to their release in the circulation in soluble forms

* Corresponding author at: Faculty of Medicine, Autonomous University of Puebla, 13 Sur 2901, Col. Volcanes, C.P. 72420 Puebla, Pue, Mexico.
E-mail address: enrique.torres@correo.buap.mx (E. Torres-Rasgado).

<https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2021.107974>

Received 28 February 2021; Received in revised form 12 May 2021; Accepted 12 June 2021

Available online 19 June 2021

1056-8727/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

(sTNFR1 and sTNFR2).⁷

TNFR1 is constitutively expressed in a broad spectrum of cell types, whereas TNFR2 is inducible, tightly regulated and exhibits more restricted expression to immune cell types (e.g., lymphocytes, regulatory T cells and monocytes), neurons, oligodendrocytes, cardiac myocytes, islets of Langerhans and endothelial cells.⁸ sTNF receptors are stable proteins that can remain in the circulation for long periods of time (half-life ~4 h) while sTNF levels are highly variable and rapidly cleared from the circulation (half-life ~6 to 7 min). In fact, plasma levels of the sTNF receptors have been proposed as biomarkers of TNF system activation.^{9,10}

Increased levels of sTNF and its receptors, sTNFR1 and sTNFR2 have been shown in T2D and in diabetes-related complications such as kidney disease and nephropathy.^{11,12} sTNFR2 has been proposed as a marker of cardiovascular disease (CVD) risk in T2D patients.^{13,14} In addition, evidence suggests that sTNFR2 is associated with diabetes risk among nonobese women.¹⁵ However, and to the best of our knowledge, reports on the effects of measures of glycemic control on sTNFR1 and sTNFR2 are lacking. In addition, very few Latin American/Hispanic subjects are included in these reports and generally they do not compare measures of sTNF levels and its receptors in women and men.

In this study, we hypothesized that disordered glycemic control leads to increases in plasma concentration of sTNF, sTNFR1 and sTNFR2 levels. We studied a cohort of T2D patients and healthy at-risk, non-diabetic individuals and characterized the relationship between the TNF system and measures of glycemic control and assessed whether sex modified these relationships.

1.1. Subjects and setting

This cross-sectional study included 265 subjects, between the ages of 30 and 65 years. 105 subjects had confirmed medical diagnosis of T2D and 160 were non-diabetic subjects at increased risk for development of T2D that were first-degree relatives of patients with T2D (Risk subjects). Patients were cared for at the Family Medical Unit No. 2 (UMF-2) of the Mexican Social Security Institute (IMSS) in Puebla, Mexico. The study was approved by the IMSS Scientific Research and Ethics Committee (R-2019-2103-022). All participants provided written informed consent before study participation and were evaluated for a complete clinical and family history, and anthropometric and biochemical parameters determined. Subjects were excluded if they did not sign the informed consent, did not conclude the clinical history or blood sampling, had chronic proinflammatory diseases (arthritis, rhinitis, malignancy, autoimmune disease, chronic hepatic disease), had endocrine diseases (hyperthyroidism, hypothyroidism or Cushing's disease), or were women who were pregnant or breastfeeding. Subjects with T2D with >10 years of evolution of the disease and/or on insulin therapy were also excluded from the study.

2. Materials and methods

2.1. Anthropometric and metabolic measurements

Height and weight were determined using an electronic digital scale (Tanita Body Composition Analyzer, Model TBF-215, Tokyo, Japan), body mass index (BMI) was calculated as $\text{weight}/\text{height}^2$ (kg/m^2). Following a 10–12 h overnight fast, whole blood samples were collected by venipuncture between 0800 and 0900. The determination of fasting plasma glucose (FPG), 2-hour glucose postload of 75 g of glucose (oral glucose tolerance test, OGTT), hemoglobin-A1C (A1C), total cholesterol, LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TGC), were performed according to conventional laboratory protocols (Clinical Analyzer System from Beckman Coulter). Fasting plasma insulin (FPI) and C-peptide concentrations were determined by immunoassay utilizing anti-insulin or anti C-peptide mouse monoclonal antibodies respectively with alkaline phosphatase (Roche E170

analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Insulin resistance and Beta cell function were determined using the Homeostatic Model Assessment (HOMA): $\text{HOMA-IR} = [\text{FPI} (\text{mU}/\text{L}) \times \text{FPG} (\text{mmol}/\text{L})]/22.5$ and $\text{HOMA-Beta} = [20 \times \text{FPI} (\text{mU}/\text{L})]/[\text{FPG} (\text{mmol}/\text{L}) - 3.5]$.¹⁶ A BMI of 25.0 to 30 kg/m^2 is considered overweight, and BMI >30 kg/m^2 is obesity.¹⁷ Dyslipidemia is defined by TGC >150 mg/dL, total cholesterol >200 mg/dL, HDL-C < 40 mg/dL or LDL-C > 130 mg/dL.¹⁸ Insulin resistance was defined by HOMA-IR >2.6.¹⁹

2.2. Glycemic assessment

Glycemic assessment was done according to glycemic control and measures of FPI, C-peptide and HOMA-Beta.²⁰ Glycemic control was categorized using the recommendations of American Diabetes Association (ADA) and the Guideline for Diagnosis and Pharmacological Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus in the First Level of Care of the Mexican Institute of Social Security.^{21,22} T2D patients were considered to be in glycemic control when their FPG was 80–130 mg/dL and/or they had an A1C <7%. Disordered glycemic control was defined by FPG >130 mg/dL and/or an A1C \geq 7%.

2.3. Measurement of plasma levels of soluble forms of TNF system components

Human sTNF, sTNFR1 and sTNFR2 levels were measured in plasma-EDTA containing samples by enzyme-linked immunosorbent assay (sTNF: Invitrogen, Carlsbad, CA, USA; sTNFR1: PeproTech, Rocky Hill, NJ and sTNFR2: R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) according to manufacturer's instructions.

2.4. Statistical analyses

Data were analyzed with SPSS for Windows version 25.0 (SPSS, Chicago, IL). Categorical variables were expressed as percentages and Chi-square test was used to compare their values. The Kolmogorov-Smirnov test was used to determine the normality of the data distribution. Nonparametric continuous variables were analyzed utilizing the Kruskal-Wallis one-way ANOVA test. The results were expressed as means \pm standard deviations or median and interquartile range (IQR), from 25th to 75th percentiles. A Spearman correlation test was used to investigate the association between sTNF, sTNFR1 and sTNFR2 with measures of glycemic assessment (FPG, A1C, FPI, C-peptide, and HOMA-Beta), lipid status (TGC and HDL-C) and insulin resistance (HOMA-IR). Multivariable linear regression analysis adjusted for age, gender and BMI was performed to determine the association between soluble components of the TNF system and glycemic assessment. Differences and correlation analyses between non-diabetic at-risk subjects and T2D patients were considered statistically significant for $P < 0.05$. Sex-based analyses for non-diabetic at risk subjects and T2D patients were corrected by the Bonferroni post hoc test for multiple comparisons and correlation analyses, using a significance threshold of 0.008 (0.05/6 comparisons). Statistical charts were generated using GraphPad Prism for Windows version 8.0.1 (San Diego, CA).

3. Results

Our study included 111 men and 154 women between the ages of 30 and 65 years with a mean age of 50.5 ± 10.5 years. In our total population, 95 (35.8%) patients were overweight, whereas 77 (29.1%) patients were obese. Metabolic characterization showed that 245 (92.5%) patients had dyslipidemia and 137 (51.7%) patients were insulin resistant. Demographic, clinical, anthropometric and metabolic characteristics of our study subjects are presented in the Supplementary Data Table 1. In addition, in our cohort, circulating levels of sTNF correlated with both receptors: sTNFR1 ($\text{Rho} = 0.144$, $P = 0.019$) and sTNFR2 ($\text{Rho} = 0.217$, $P < 0.0001$).

Table 1

Sex-based analyses for non-diabetic at risk subjects (Risk) and patients with type 2 diabetes. Data shown as means ± standard deviation or median and interquartile range (IQR), from 25th to 75th percentiles. The comparison between the groups was carried out by the Kruskal-Wallis test or one way Anova test adjusted with the Bonferroni correction for repeated samples. $P < 0.008$ (0.05/6 comparisons) was considered significant.

Parameter	Risk subjects (n = 160)		Type 2 diabetics (n = 102)	
	Men (n = 65)	Women (n = 95)	Men (n = 46)	Women (n = 59)
BMI (kg/m ²)	26.0 (24.0–30.2)	25.4 (22.9–29.2)	27.5 (24.7–30.7) [†]	29.6 (25.2–35.7)
FPG (mg/dL)	95.0 (92.0–102.0)	94.0 (86.0–103.0)	158.5 (125.5–209.2) ^{‡,§}	180.0 (128.0–278.0)
A1C (%)	5.2 (4.9–5.5)	5.2 (5.1–5.5)	7.2 (6.5–9.4) ^{‡,§}	8.1 (6.6–10.1)
FPI (μU/mL)	8.1 (5.6–12.5)	9.2 (5.9–12.8)	8.8 (5.9–12.9)	10.1 (6.5–14.6)
C-peptide (ng/mL)	2.2 (1.6–2.8)	2.2 (1.6–3.0)	2.9 (2.0–3.4) ^{‡,§}	2.8 (2.4–3.8)
TGC (mg/dL)	151.0 (99.5–231.0)	138.0 (93.0–190.0)	188.0 (139.5–311.0) [†]	183.0 (142.0–236.0)
Total cholesterol (mg/dL)	151.0 (120.0–184.0)	159.0 (127.0–200.0)	168.0 (133.0–208.0)	159.0 (135.0–205.0)
LDL-C (mg/dL)	94.0 (75.0–118.0)	101.0 (80.0–131.0)	115.5 (76.5–148.2)	113.0 (83.0–142.0)
HDL-C (mg/dL)	28.0 (11.5–39.0)	28.0 (11.0–43.0)	25.0 (12.0–34.0)	22.0 (12.0–32.0)
HOMA-IR	1.8 (1.3–2.8)	2.1 (1.3–3.1)	3.7 (2.4–6.0) ^{‡,§}	4.7 (2.9–7.0)
HOMA-Beta (%)	93.3 (59.9–132.5)	107.1 (75.3–150.7)	30.2 (19.8–55.3) ^{‡,§}	29.0 (12.9–71.4)
sTNF (pg/mL)	82.9 ± 39.5	89.6 ± 41.4	138.5 ± 57.9 [§]	139.5 ± 52.1
sTNFR1 (pg/mL)	523.7 ± 79.0	547.8 ± 91.8	523.0 ± 78.4	560.2 ± 83.0
sTNFR2 (pg/mL)	2031.7 ± 478.9	2048.3 ± 466.6	2386.7 ± 718.7 [†]	2938.6 ± 911.8 [†]

Abbreviations: body mass index (BMI), fasting plasma glucose (FPG), hemoglobin-A1C (A1C), fasting plasma insulin (FPI), triglycerides (TGC), LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C), homeostatic model assessment-Insulin resistance (HOMA-IR), homeostatic model assessment-B cell function (HOMA-Beta), soluble Tumor Necrosis Factor (sTNF), soluble TNF receptor-1 (sTNFR1), and soluble TNF receptor-2 (sTNFR2).

[‡] Diabetic Men vs diabetic Women.

[§] RS Men vs diabetic Men.

[†] RS Women vs diabetic Women.

Our study included 105 T2D patients with a mean of 4.9 ± 4.5 years of diabetes diagnostic. Comparative analyses for non-diabetic subjects and T2D patients are shown in the Supplementary Data Table 1. Anthropometric and metabolic characterization showed that 34.3% of

T2D patients were overweight and 40.0% were obese, 84.8% were insulin resistant and 100.0% were dyslipidemics. Glycemic assessment showed that 77.1% of T2D patients had disordered glycemic control, higher C-peptide levels, and lower Beta cell function when compared to

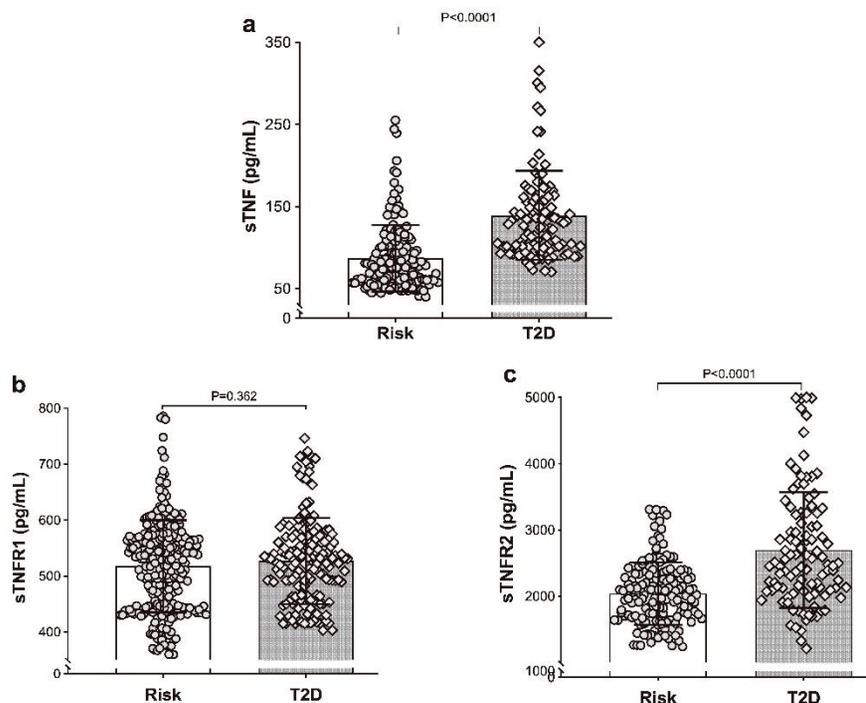


Fig. 1. Circulating levels of soluble TNF system components for non-diabetic at-risk subjects (Risk) vs. patients with type 2 diabetes (T2D). a) sTNF: 86.9 ± 40.6 vs. 139.1 ± 54.5 pg/mL; b) sTNFR1: 538.0 ± 87.4 vs. 547.8 ± 81.8 pg/mL y c) sTNFR2: 2041.5 ± 870.2 vs. 2696.8 ± 873.4 pg/mL). Data shown as means ± standard deviation. Comparisons between the groups were analyzed by one way Anova test. $P < 0.05$ was considered significant. Abbreviations: soluble Tumor Necrosis Factor (sTNF), soluble TNF receptor-1 (sTNFR1), soluble TNF receptor-2 (sTNFR2).

at risk subjects. Evaluation of Beta cell function showed low levels of HOMA-Beta index with higher C-peptide levels in T2D patients. Analyses of pharmacological management showed that 84.8% of the T2D patients were treated with metformin and/or glibenclamide (49.5% with metformin alone, 28.6% metformin combined with glibenclamide and 6.7% only with glibenclamide).

Analyses of our cohort showed that sTNF and sTNFR2 but not sTNFR1 were increased in T2D when compared to non-diabetic at risk subjects (Fig. 1). In T2D patients, lipid status analysis showed that HDL-C correlated negatively with sTNF ($Rho = -0.223, P = 0.022$) and sTNFR2 ($Rho = -0.203, P = 0.038$). Only sTNFR2 was associated with HOMA-IR ($Rho = 0.234, P = 0.016$). In addition, multivariate linear regression analyses of our T2D patients showed that A1C ($b = 0.504, P < 0.0001$) and C-peptide ($b = 0.167, P = 0.049$) were independent determinants of sTNFR2 levels ($R^2 = 0.354$) following adjustment for age, gender and BMI. sTNFR1 levels had no significant association with any metabolic parameter studied (data not shown).

When we grouped our T2D patients according to glycemic control, we did not observe significant differences in BMI, FPI, C-peptide, total cholesterol, LDL-C, HDL-C and TGC (Supplementary Data Table 2). T2D patients with disordered glycemic control showed higher levels of sTNF and TNFR2 compared with T2D patients with glycemic control. sTNFR2 was associated with FPG ($Rho:0.393, P < 0.0001$), A1C ($Rho:0.451, P < 0.0001$) and HOMA-Beta ($Rho:-0.308, P = 0.005$). sTNF only was correlated with A1C ($Rho:0.254, P = 0.021$). sTNFR1 did not show any significant relationship with parameters of glycemic assessment (Fig. 2).

Comparative sex-based analyses for non-diabetic at risk subjects and T2D patients are summarized in Table 1. Women with T2D had significantly higher levels of sTNFR2 than men with T2D. However, no significant differences were observed for sTNF and sTNFR1 between women and men with T2D (Fig. 3). Interestingly, only sTNFR2 significantly correlated with parameters of glycemic assessment in T2D women: FPG ($Rho:0.494, P < 0.0001$), A1C ($Rho:0.488, P < 0.0001$), FPI ($Rho:-0.365, P < 0.0001$) and HOMA-Beta ($Rho:-0.421, P < 0.0001$) (Fig. 4). Of note, in T2D men, sTNF correlated with

glycemic parameters: FPG ($Rho = 0.485, P = 0.001$), A1C ($Rho = 0.486, P = 0.001$), and HOMA-Beta ($Rho = -0.367, P = 0.012$).

4. Discussion

Our results support the hypothesis that disordered glycemic control leads to increases in sTNF and sTNFR2 but not sTNFR1 levels in a cohort of Latin American T2D patients and non-diabetic at risk subjects. Sex-based analyses of our cohort following simultaneous measurements of sTNF, sTNFR1 and sTNFR2 that were characterized by their glucose homeostatic status showed that circulating sTNFR2 levels were significantly higher in women than men and was associated with disordered glycemic control.

Low grade systemic inflammation has been shown to activate circulating immune cells in metabolic diseases.²³ T2D is considered a pro-inflammatory disease³ that is associated with increased production of cytokines, including sTNF²⁴. Increased sTNF regulates insulin signaling, increases insulin resistance and glucose homeostasis.²⁵ There is evidence that glucose in human monocytes in vitro can stimulate the secretion of sTNF²⁶. In addition, a recent study reported that an acute glucose load in humans was associated with increased sTNF serum levels.²⁷

sTNFR1 has been associated with poor glycemic control and risk of microvascular complications in type 1 diabetes.²⁸ sTNFR1 levels were associated with loss of kidney function in Hispanic T2D patients.²⁹ In addition, inhibition of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) slowed kidney function decline in T2D, decreasing plasma concentration of inflammatory molecules, including sTNFR1.³⁰ Contrary to these results, we observed that sTNFR1 levels in our T2D patients did not show any significant relationship with parameters of glycemic assessment. To the best of our knowledge, there are no reports on the effects of glucose on sTNFR2. We observed that our T2D patients with disordered glycemic control had higher sTNF and sTNFR2 levels when compared with T2D patients with adequate glycemic control. sTNF was associated only with A1C levels, whereas sTNFR2 correlated with FPG, A1C and HOMA-Beta.

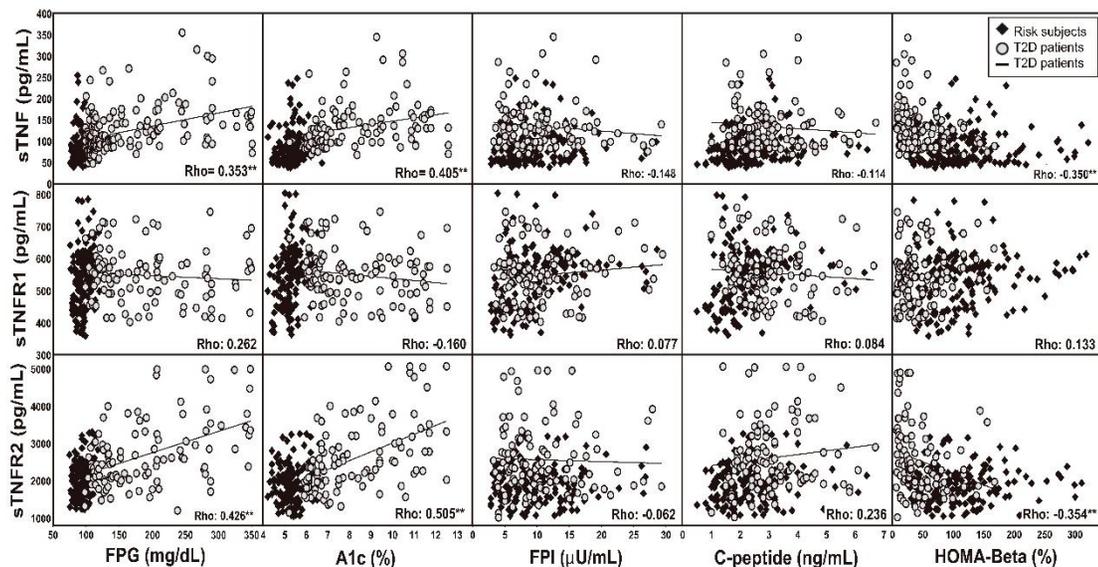


Fig. 2. Correlation analyses between soluble TNF system components with measures of glycemic control in non-diabetic at-risk subjects (Risk) vs. patients with type 2 diabetes (T2D). The P value shown was estimated from Spearman's correlation analyses. Correlation coefficients Rho corresponds to T2D patients group. **Correlation is significant at the 0.0001 level (2-tailed) for T2D patients. Abbreviations: soluble Tumor Necrosis Factor (sTNF), soluble TNF receptor-1 (sTNFR1), soluble TNF receptor-2 (sTNFR2), fasting plasma glucose (FPG), hemoglobin-A1C (A1C), Homeostatic Model Assessment-Beta cell function (HOMA-Beta) and fasting plasma insulin (FPI).

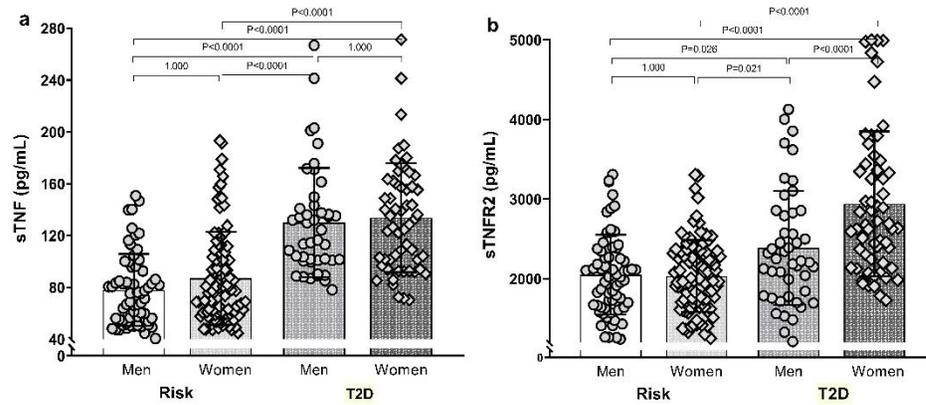


Fig. 3. sTNF and TNFR2 levels by sex in non-diabetic at risk subjects (Risk) and in patients with Type 2 diabetes. a): sTNF and b): sTNFR2. Data shown as means ± standard deviation. The comparison between the groups was carried out by the one way Anova test adjusted with the Bonferroni correction for repeated samples. $P < 0.008$ (0.05/6 comparisons) was considered significant. Abbreviations: soluble Tumor Necrosis Factor (sTNF) and soluble TNF receptor-2 (sTNFR2).

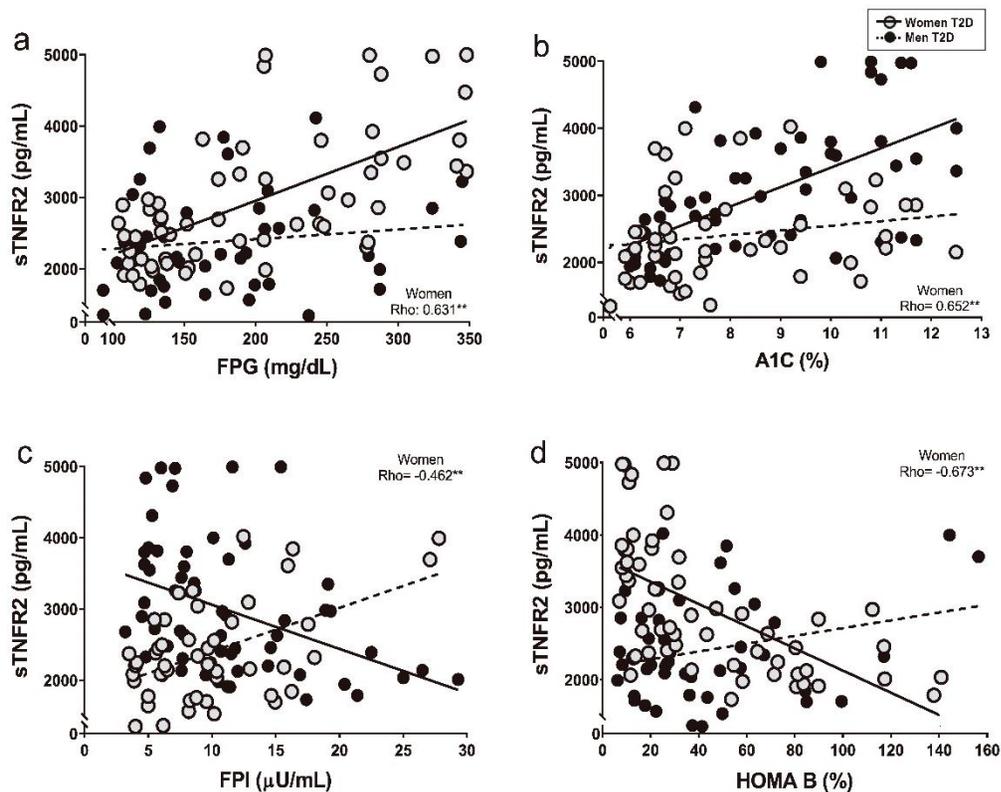


Fig. 4. sTNFR2 levels correlate with measures of glycemic control in women but not men with type 2 diabetes. a): sTNFR2 vs FPG, b): sTNFR2 vs A1C, c): sTNFR2 vs FPI, d): sTNFR2 vs, HOMA-Beta. Correlation for Men: FPG: $Rho = 0.149$ $P = 0.321$; HbA1c: $Rho = 0.353$ $P = 0.016$, FPI: $Rho = 0.194$ $P = 0.196$, and HOMA-Beta: $Rho = -0.112$ $P = 0.458$. The P value was estimated from Spearman's correlation analyses with Bonferroni correction for repeated samples. $P < 0.008$ (0.05/6 comparisons) was considered significant. Abbreviations: fasting plasma glucose (FPG), Hemoglobin-A1C (A1C), fasting plasma insulin (FPI), Homeostatic Model Assessment-B cell function (HOMA-Beta) and soluble TNF receptor-2 (sTNFR2).

Together these findings suggest the presence of a feed-forward mechanism with disordered glycemic control and inflammation affecting the TNF system and creating a vicious cycle. High circulating glucose levels

may stimulate release of sTNF, sTNFR2 and other cytokines by immune and endothelial cells, which in-turn impair insulin signaling, reduce glucose uptake and further increase circulating glucose levels.

Comparative sex-based analyses of our T2D patients did not show differences in anthropometric and metabolic parameters, sTNF and sTNFR1. However, we observed that women with T2D had 35% higher sTNFR2 plasma levels as compared to men with T2D. sTNFR2 levels were associated with parameters of glycemic assessment (FPG, A1C, FPI and HOMA-Beta). The precise mechanism(s) that explain the sexual dimorphism regarding sTNFR2 levels in our cohort is (are) unknown. Consistent with our findings, Shai et al. reported increased levels of sTNFR2 in women with T2D, which were associated with higher levels of A1C and increased risk of coronary heart disease that was independent of hyperglycemia. However, no measures of sTNF and TNFR1 levels were reported in this study and the cohort did not include data on men.¹⁴ Of interest, Wege et al. reported sex differences in the expression profile of peroxisome proliferator activated receptor- α (PPAR α).³¹ This is important as PPAR α regulates glucose metabolism, mediates reduction of the inflammatory responses by inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines and reducing oxidative stress.³² In addition, PPAR α stimulation improves glucose tolerance and insulin sensitivity in T2D patients.³³

Mononuclear cells isolated from otherwise healthy women as compared to men show greater agonist-stimulated sTNF production.³⁴ In addition, hyperglycemia in T2D patients has been shown to induce oxidative stress³⁷ and stimulate the formation of advanced glycation end products (AGE), which are glycated proteins and lipids that are associated with CVD related mortality in women but not in men.³⁵

Reports show that the prevalence, progression and pathophysiology of vascular complications of T2D also differ by sex.² Women with T2D, as compared to men with T2D, have excess risk of CVD³⁶ and mortality rates that are significantly higher than those observed in men for myocardial infarction, coronary heart disease, metabolic syndrome and stroke.³⁷ Of note, impaired glucose tolerance and higher BMI have been reported in women when compared to men.³⁸ These reports are consistent with our data showing that approximately 25% of the non-diabetic women in our cohort had an altered OGTT compared to 9.1% of the non-diabetic men and 47.5% of our T2D women as compared to 30.4% of T2D men showed obesity grade I or higher. Consequently, both increased inflammatory responses and disordered glucose handling may contribute to activation of the TNF system, the observed sex differences and the excess cardiovascular risk in women with T2D.

Growing evidence implicates sTNFR2 with the pathophysiology of many inflammatory diseases including, rheumatoid arthritis, tumorigenesis, atherosclerosis, systemic lupus erythematosus and diabetes complications.^{10,39,40} sTNFR2 plays important roles in multiple aspects of the pathophysiology of these diseases including the proliferation of tumor cells, evasion of immune surveillance, activation of endothelial cells and angiogenesis.^{10,39} sTNFR2 has been demonstrated to be a very stable protein and its quantification easy to perform with high reproducibility and sensitivity.^{41,42} Thus, sTNFR2 may be a non-invasive potential biomarker of CVD and TNF system activation in T2D, especially among T2D women with disordered glycemic control. Clearly, more studies are needed to characterize these associations and determine why measures of glucose control do not associate with sTNFR1 levels.

It is important to note that our total population showed anthropometric and metabolic alterations independent of T2D diagnosis: 64.9% patients were overweight or obese, 92.5% had dyslipidemia and 51.7% were insulin resistant. In addition, T2D patients showed disordered glycemic control (77.1%) that was higher than that reported in the general population in Mexico (68.2%).⁴³ Our T2D patients showed low levels of HOMA-Beta index with relative high C-peptide levels (maybe due to the presence of insulin resistance) both parameters are widely used as indirect methods of assessing pancreatic beta cell function.^{44,45} HOMA-Beta provides accurate pathophysiological insight into the changes in insulin secretory function that occur over time in patients with T2D. Consequently, HOMA-Beta index are lower in patients with progressive degrees of fasting hyperglycaemia.⁴⁵ Fasting C-peptide

concentrations correlate with microvascular and macrovascular complications in T2D and is proposed to provide an accurate assessment of beta cell reserves (values <2.0 ng/mL are indicative of borderline reserve).⁴⁶ C-peptide is secreted in equimolar amounts with insulin from pancreatic beta cells and is cleared in the circulation at a constant rate, whereas insulin is cleared variably (half-life of 20–30 min, compared with the half-life of insulin of just 3–5 min).⁴⁴

Our study has some limitations. This is a cross-sectional study of a cohort of Mexican subjects from one geographic area in the State of Puebla in central Mexico and as such, does not represent a random sample of the general population and cannot provide cause and effect relationship. Also, we did not measure sex hormone levels in our cohort, nor did we establish the menstrual cycle status at blood draw. Nonetheless, our data provide unique insights into important novel associations between measures of glycemic assessment and the TNF system in T2D and non-diabetic men and women that are at-risk for developing T2D. It is important to note that men have been reported to have a higher prevalence and incidence of T2D than women in the US⁴⁷. However, in Mexico, the total prevalence of T2D in women is approximately 11.4% and 9.1% in men⁴⁸; results that are consistent with observations in Latin American/Hispanic women in the US where a higher prevalence of T2D has been reported when compared to non-Hispanic white women.¹ In Mexico, the prevalence of T2D is approximately 10.3% and disordered glycemic control is observed in 68.2% of T2D patients⁴⁸ and is associated with a far worse prognosis than that observed in other high-income countries such as the US⁴⁹.

Our findings of increased sTNFR2 levels in Latin American women may represent a novel biomarker of increased inflammatory responses and CVD risk in women with T2D. These results are important as there is growing recognition that CVD in women with T2D is more aggressive and has a worse prognosis. Coronary heart disease and myocardial infarctions tend to be more deadly in women than in men.⁵⁰ Thus, studies to characterize the precise mechanisms responsible for these biological sex differences warrant further investigation as sex differences in pharmacotherapy and increased cardiovascular risk factors may not be the only causes of the excess cardiovascular risk observed in T2D women.³⁶

5. Conclusion

Our data support the contention that disordered glycemic control is associated with increased circulating sTNF and sTNFR2 levels but not sTNFR1 and that sTNFR2 levels are higher in women than men. Thus, increased sTNFR2 levels may be an important biomarker for the pathophysiology of T2D in women and men.

CRedit authorship contribution statement

All authors participated in this study, have read, and approved the final manuscript publication. JRR, PPP and ETR conceptualized and designed the study; JRR, JLRE, RPF and ETR obtained financial support; RPF realized clinical evaluations; PPP and ETR designed and carried out the experiments, data curation and statistical analyses; PPP, ETR, JLRE, JRA, RPF and JRR performed data interpretation; PPP and JRR wrote the first draft of the manuscript.

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the IMSS Scientific Research and Ethics Committee on December 2019, with the number: R-2019-2103-022. All participants provided written informed consent before study participation.

Funding

This work was supported in part by the David Rockefeller Center for

P. Pulido-Perez et al.

Journal of Diabetes and Its Complications 35 (2021) 107974

Latin American Studies at Harvard University – Faculty Grant Award funded by the Banco Santander Fund (USA). This study was in part supported by an doctorate fellowship from CONACyT, Mexico (to PPP); grant R01-HL096518 the National Heart, Lung, and Blood Institute (USA) (to JRR); grants from Vice-Rectoría for Research and Postgraduate Studies of the Autonomous University of Puebla, Mexico [PERF-SAL17-G (to RPF) and TORE-SAL17-1 (to ETR)].

Acknowledgements

The authors thank Dr. Gary Bradwin [Manager, Clinical and Epidemiologic Laboratory (CERLab), Boston Children's Hospital] for his kind assistance in performing the ELISA measurements. Our special thanks to patients, medical and non-medical workers, as well as the clinical laboratory department of Family Medical Unit No. 2 of the Mexican Social Security Institute in Puebla, Mexico for their great support in the development of this project.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2021.107974>.

References

- Spanakis EK, Golden SH. Race/ethnic difference in diabetes and diabetic complications. *Current Diabetes Reports*. 2013;13:814–823. <https://doi.org/10.1007/s11892-013-0421-9>.
- Maric-Bilkan C. Sex differences in micro- and macro-vascular complications of diabetes mellitus. *Clinical Science (London, England: 1979)*. 2017;131:833–846. <https://doi.org/10.1042/cs20160998>.
- Domingueti CP, Dusse LM, Carvalho M, de Sousa LP, Gomes KB, Fernandes AP. Diabetes mellitus: the linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2016;30:738–745. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2015.12.018>.
- Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*. 2000;11:212–217. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00272-1).
- Yi F, Frazzette N, Cruz AC, Klebanoff CA, Siegel RM. Beyond cell death: new functions for TNF family cytokines in autoimmunity and tumor immunotherapy. *Trends in Molecular Medicine*. 2018;24:642–653. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.05.004>.
- Horiuchi T, Mitoma H, Harashina S, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49:1215–1228. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq031>.
- Zunke F, Rose-John S. The shedding protease ADAM17: Physiology and pathophysiology. *Biochimica et Biophysica Acta, Molecular Cell Research*. 2017;1864:2059–2070. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.07.001>.
- Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death and Differentiation*. 2003;10:45–65. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401189>.
- Speeckaert MM, Speeckaert R, Laute M, Vanholder R, Delanghe JR. Tumor necrosis factor receptors: biology and therapeutic potential in kidney diseases. *American Journal of Nephrology*. 2012;36:261–270. <https://doi.org/10.1159/000342333>.
- Sheng Y, Li F, Qin Z. TNF receptor 2 makes tumor necrosis factor a friend of tumors. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1170. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.011170>.
- Schrauben SJ, Shou H, Zhang X, et al. Association of multiple plasma biomarker concentrations with progression of prevalent diabetic kidney disease: findings from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2021;32:1115–1126. <https://doi.org/10.1681/asn.2020040487>.
- Pavkov ME, Weil EJ, Fufaa GD, et al. Tumor necrosis factor receptors 1 and 2 are associated with early glomerular lesions in type 2 diabetes. *Kidney International*. 2016;89:226–234. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.278>.
- Mendelson MM, Johannes R, Liu C, et al. Epigenome-wide association study of soluble tumor necrosis factor receptor 2 levels in the Framingham heart study. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:207. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00207>.
- Shai I, Schulze MB, Manson JE, et al. A prospective study of soluble tumor necrosis factor-alpha receptor II (sTNF-RII) and risk of coronary heart disease among women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:1376–1382. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.6.1376>.
- Hu FB, Meigs JB, Li TY, Rifai N, Manson JE. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes*. 2004;53:693–700. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.3.693>.
- Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27:1487–1495. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.6.1487>.
- Organization WH. World Health Organization. In: *Obesity and overweight*; 2020. Fact sheet April. Available from <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Cardiovascular disease and risk management: STANDARDS of medical care in diabetes - 2021. *Diabetes Care*. 2021;44:S125–S150. <https://doi.org/10.2337/dc21-S010>.
- Qu HQ, Li Q, Rentfro AR, Fisher-Iloch SP, McCormick JB. The definition of insulin resistance using HOMA-IR for Americans of Mexican descent using machine learning. *PLoS One*. 2011;6, e21041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021041>.
- Li Y, Xu W, Liao Z, et al. Induction of long-term glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients is associated with improvement of beta-cell function. *Diabetes Care*. 2004;27:2597–2602. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.11.2597>.
- Glycemic targets: standards of medical care in diabetes - 2021. *Diabetes Care*. 2021;44:S73–S84. <https://doi.org/10.2337/dc21-S006>.
- Diagnóstico y Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. In: *Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica*. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 2018. Available from <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/718GER.pdf>.
- José Israel L-P, Luis Alonso G-T, Esteban DG-R, Galileo E, Antonio G-C. Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: From the molecular evidence to the clinical practice. *Cirugía y Cirujanos*. 2015;83:543–551. <https://doi.org/10.1016/j.circun.2015.11.008>. English Edition.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001;104:487–501. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00237-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00237-9).
- Borst SE. The role of TNF-alpha in insulin resistance. *Endocrine*. 2004;23:177–182. <https://doi.org/10.1385/endo:23:2-3:177>.
- Gonzalez Y, Herrera MF, Soldevila G, et al. High glucose concentrations induce TNF-alpha production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes. *BMC Immunology*. 2012;13:19. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-13-19>.
- Esposito K, Nappo F, Marfella R, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002;106:2067–2072. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000034509.14906.a6>.
- el-Samahy MH, Adly AA, Ismail EA, Salah NY. Regulatory T cells with CD62L or TNFR2 expression in young type 1 diabetic patients: relation to inflammation, glycemic control and micro-vascular complications. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2015;29:120–126. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2014.07.004>.
- Gómez-Banoy N, Cuevas V, Higuera A, Aranzález LH, Mockus I. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is associated with diminished estimated glomerular filtration rate in colombian patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2016;30:852–857. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.03.015>.
- Heerspink HJL, Perco P, Mulder S, et al. Canagliflozin reduces inflammation and fibrosis biomarkers: a potential mechanism of action for beneficial effects of SGLT2 inhibitors in diabetic kidney disease. *Diabetologia*. 2019;62:1154–1166. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4859-4>.
- Wege N, Schutkowski A, Boenn M, et al. Men and women differ in their diurnal expression of monocyte peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in the fed but not in the fasted state. *The FASEB Journal*. 2015;29:2905–2911. <https://doi.org/10.1096/fj.14-267575>.
- Youssef J, Badr M. Role of peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*. 2004;2004:156–166. <https://doi.org/10.1155/s1110724304308065>.
- Rosenson RS. Effects of peroxisome proliferator-activated receptors on lipoprotein metabolism and glucose control in type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of Cardiology*. 2007;99:96b–104b. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.11.010>.
- Asai K, Hiki N, Mimura Y, Ogawa T, Unou K, Kamishiki M. Gender differences in cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells: role of estrogen in modulating LPS-induced cytokine secretion in an ex vivo septic model. *Shock*. 2001;16:340–343. <https://doi.org/10.1097/00024382-200116050-00003>.
- Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S, et al. Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia*. 2007;50:1409–1417. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0687-z>.
- Recarri C, Sep SJ, Stehouwer CD, Unger T. Excess cardiovascular risk in diabetic women: a case for intensive treatment. *Current Hypertension Reports*. 2015;17:554. <https://doi.org/10.1007/s11906-015-0554-0>.
- Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of Type 2 Diabetes mellitus. *Endocrine Reviews*. 2016;37:278–316. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1137>.
- Winkler TW, Justice AE, Graff M, et al. The influence of age and sex on genetic associations with adult body size and shape: a large-scale genome-wide interaction study. *PLoS Genetics*. 2015;11, e1005378. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005378>.
- Medler J, Wajant H. Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): an overview of an emerging drug target. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2019;23:295–307. <https://doi.org/10.1080/14728222.2019.1586886>.
- Carlsson AC, Ostgren CJ, Nystrom FH, et al. Association of soluble tumor necrosis factor receptors 1 and 2 with nephropathy, cardiovascular events, and total mortality in type 2 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*. 2016;15:40. <https://doi.org/10.1186/s12933-016-0359-8>.
- Matic-Petrović S, Pucar A, Jotic A, et al. Relationship between serum tumor necrosis factor receptor-2 concentration and periodontal destruction in patients with type 2 diabetes: cross-sectional study. *Srpski Arhiv za Celokupno Lekarstvo*. 2016;144:266–272.
- Safranow K, Dziedzic V, Rzeuski R, et al. Plasma concentrations of TNF-alpha and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens*. 2009;74:386–392. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2009.01332.x>.

P. Pulido-Perez et al.

Journal of Diabetes and Its Complications 35 (2021) 107974

- 43 Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Heredia-Hernández O, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 19: Resultados Nacionales. México Instituto Nacional de Salud Pública; 2020. Available from https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_informe_final.pdf.
- 44 Leighton E, Sainsbury CA, Jones GC. A practical review of C-peptide testing in diabetes. *Diabetes Therapy: Research, Treatment and Education of Diabetes and Related Disorders*. 2017;8:475–487. <https://doi.org/10.1007/s13300-017-0265-4>.
- 45 Reaven GM. HOMA-beta in the UKPDS and ADOPT. Is the natural history of type 2 diabetes characterised by a progressive and inexorable loss of insulin secretory function? Maybe? Maybe not? *Diabetes & Vascular Disease Research*. 2009;6:133–138. <https://doi.org/10.1177/1479164109336038>.
- 46 Son SM. C-peptide and vascular complications in type 2 diabetic subjects. *Diabetes and Metabolism Journal*. 2012;36:345–349. <https://doi.org/10.4093/dmj.2012.36.5.345>.
- 47 Huebschmann AG, Huxley RR, Kohrt WM, Zeitler P, Regensteiner JG, Reusch JEB. Sex differences in the burden of type 2 diabetes and cardiovascular risk across the life course. *Diabetologia*. 2019;62:1761–1772. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4939-5>.
48. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Ciudad de Mexico: INEGI; 2018. https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/cnsanut_2018_prescncntacion_rcsultados.pdf.
- 49 Alegre-Díaz J, Herrington W, López-Cervantes M, et al. Diabetes and cause-specific mortality in Mexico City. *The New England Journal of Medicine*. 2016;375:1961–1971. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1605368>.
- 50 Regensteiner JG, Golden S, Huebschmann AG, et al. Sex differences in the cardiovascular consequences of diabetes mellitus: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2015;132:2424–2447. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000343>.

Renal function, serum magnesium levels and mortality in COVID-19 patients with type 2 diabetes

Patricia Pulido-Perez^{1,a}, Jorge Alberto Pondigo-de los Angeles^{2,a}, Maria Elena Hernandez-Hernandez^{1,3}, Enrique Torres-Rasgado³, Jose R. Romero⁴

¹ Doctorate in Biological Science, Autonomous University of Tlaxcala, Mexico. La Loma Xicohtencatl, C.P. 90070 Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ² Internal Medicine Department, University Hospital of Puebla, Puebla, Mexico. Av 27 Poniente, Los Volcanes, C.P. 72410 Puebla, Puebla, Mexico; ³ Faculty of Medicine, Autonomous University of Puebla, Mexico. 13 Sur 2901, Los Volcanes, C.P. 72420, Puebla, Puebla, Mexico; ⁴ Division of Endocrinology, Diabetes and Hypertension, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, and Harvard Medical School. 75 Francis Street Boston, Massachusetts, United States

Correspondence

<entora30@yahoo.com>

Abstract. Background: Patients with type 2 diabetes (T2D) and Latin American subjects in particular are at an increased risk of developing severe COVID-19 and mortality. Altered renal function and lower magnesium levels have been reported to play important roles in the pathophysiology of T2D. **Objective:** The aim of the study was to investigate the relationship between renal function, serum magnesium levels and mortality in T2D patients with COVID-19. **Methods:** In this retrospective study, we characterized 118 T2D and non-diabetic subjects hospitalized with COVID-19. Patients were clinically characterized and electrolyte, renal function and inflammatory markers were evaluated. Patients were grouped according to their estimated glomerular filtration rate (eGFR <60 mL/min per 1.73 m²). **Results:** T2D patients had lower eGFR and serum magnesium levels when compared to non-diabetics (59.7 ± 32.8 vs. 78.4 ± 33.8 mL/min per 1.73 m², P = 0.008 and 1.9 ± 0.3 vs. 2.1 ± 0.3 mEq/L, P = 0.012). Survival was worse in T2D patients with eGFR levels less than 60 mL/min per 1.73 m² as estimated by Kaplan-Meier analyses (log-rank test <0.0001). The Cox model for T2D patients showed that eGFR (HR 0.970, 95% CI 0.949 to 0.991, P = 0.005) and magnesium (HR 8.025, 95% CI 1.226 to 52.512, P = 0.030) were associated with significantly increased risk of death. **Conclusion:** Reduced eGFR and magnesium levels were associated with increased mortality in our population. These results suggest that early assessment of kidney function, including magnesium levels, may assist in developing effective treatment strategies to reduce morbidity and mortality among Latin American COVID-19 patients with T2D.

Key words: SARS-CoV-2, glomerular filtration rate, serum magnesium levels, type 2 diabetes

^a These authors have contributed equally to this work and share first authorship.

Introduction

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) remains a major public health problem in the Americas. Latin American/Hispanic subjects appear to be more susceptible to worse outcomes following infection with the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) through unclear mechanisms [1]. A recent report has revealed that factors such as race/ethnicity and the presence of comorbidities (obesity, diabetes and hypertension) have disproportional and more severe impact on COVID-19 risk for infection and mortality [2]. In the United States, Latin American/Hispanic subjects are 1.7 times more likely than white adults to have type 2 diabetes (T2D) [3]. In Mexico, T2D has a prevalence of approximately 10.3% and is associated with a far worse prognosis than that observed in high-income countries such as the US [4]. Of interest, there is growing evidence that in China, Europe and the United States, patients with T2D who are infected with SARS-CoV-2 show increased risk of more severe COVID-19 illness and death [5, 6]. In fact, T2D is the third most commonly observed COVID-19 comorbidity [7].

Patients with T2D show evidence of poor glycemic control [8] that is associated with magnesium (Mg) deficiency and a subacute pro-inflammatory state, including increased circulating pro-inflammatory cytokines and disordered lymphocyte, neutrophil and macrophage levels as compared to non-diabetic subjects [9-11]. It has been proposed that these factors may increase the risk of developing the cytokine release syndrome and increase COVID-19 disease severity [12]. In addition, patients with T2D who are infected with SARS-CoV-2 show evidence of impaired kidney function [13, 14] that also may contribute to Mg deficiency in patients with COVID-19 [15].

Reduced circulating level of Mg has been documented in patients with T2D [16, 17] and hypertension [18] and is considered a marker of increased cardiovascular disease risk and mortality [18, 19]. Mg is an essential divalent cation controlling numerous enzymatic reactions and processes in the body [20]. It is regulated by its uptake in the gastrointestinal tract, storage in the bones and, in particular, mechanisms regulating electrolyte and water balance in the kidney, including the glomerular filtration rate [20]. These mechanisms suggest that Mg

deficiency and renal disorders may contribute to COVID-19 disease severity [10]. However, and to the best of our knowledge, information regarding clinical characteristics, renal function and Mg homeostasis in COVID-19 patients with T2D is very limited.

In this study, we explored the hypothesis that COVID-19 patients with T2D, as compared to non-diabetics, show impaired renal function and disordered Mg levels that are associated with COVID-19-related mortality. To test our hypothesis, we characterized a cohort of COVID-19 patients with and without T2D admitted to the University Hospital of Puebla in the city of Puebla in Mexico. These patients showed a pattern of disease that was not very different from that observed in patients in the US, Europe and China. We show that these Latin American patients had evidence of impaired renal function and low serum Mg levels. Thus, because of the high contagiousness and rapid worldwide spread of SARS-CoV-2 [21], as well as the high incidence of COVID-19 among underrepresented minority populations in the US, the characterization of these patients in Mexico is important as this will facilitate development of optimal treatment strategies and assist in the prioritization of antiviral drugs and vaccine use.

Materials and methods

Data source, subjects and setting

This retrospective cross-sectional study included 118 adult patients who were hospitalized for COVID-19 from March 24 to November 3, 2020 at the University Hospital of Puebla (HUP) in the city of Puebla in Mexico. The study was approved by the Institutional Ethics Committee of the HUP (Registry CEIHUP 2020/033). This study was conducted using data collected from routine clinical practice and waived the requirements for informed consent. Diagnosis was by real-time PCR testing of a nasopharyngeal sample following protocols recommended by the World Health Organization (WHO) [22] and validated by National Institute of Epidemiologic Diagnosis and Reference (INDRE) in Mexico. Our study follows the recommendations for strengthening the reporting of observational studies as noted in Strengthening the Reporting

PP. PEREZ, *ET AL.*

of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) guidelines [23].

Demographic clinical symptoms and laboratory data were collected from hospital electronic health records. The database was independently checked by two researchers. Clinical information collected included medical and exposure history, comorbidities, vital signs (cardiac and respiratory rate, blood pressure), symptoms and treatment regimens for COVID-19 and other comorbidities. Additional data collected were respiratory support (e.g., nasal tube, non-invasive and invasive mechanical ventilation), partial pressure of oxygen/fraction of inspired oxygen ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)—an indirect measure of the lung injury [24], organ failure as estimated by the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score [25], length of stay and prognosis (discharged or death). Laboratory evaluations included standard blood cell counts: erythrocytes, leucocytes, lymphocytes, neutrophils and platelets; the determination of metabolic status: plasma glucose (PG), uric acid, cholesterol and liver function enzymes: total and direct bilirubin (TB and DB), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST); coagulation and inflammatory markers: prothrombin and partial thromboplastin time (PT and PTT), D-dimer, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and procalcitonin levels.

Evaluation of renal function

Renal function was assessed by estimated glomerular filtration rate (eGFR) calculated by the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation [CKD-EPI = $141 \times \min(S_{\text{Creatinine}}/k, 1)^\alpha \times \max(S_{\text{Creatinine}}/k, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Age}(\text{years})}$ (X 1.018 if female), where k is 0.7 for females and 0.9 for males and α is -0.329 for females and -0.411 for males] [26]. CKD-EPI is a commonly accepted tool to evaluate chronic kidney damage and most frequently used worldwide including Mexico. As previously described, values of eGFR ≥ 90 mL/min per 1.73 m^2 were considered normal function, an eGFR of 89 to 60 mL/min per 1.73 m^2 indicated mild decreased function and eGFR level less than 60 mL/min per 1.73 m^2 was considered as a marker of disordered renal function that represents loss of half or more of the adult level of normal kidney function [27]. Creatinine, urea,

blood urea nitrogen (BUN) were also evaluated. Determination for sodium and potassium levels was carried out using appropriate ion-selective electrodes and the ortho-cresolphthalein dye method for calcium levels. Serum Mg levels were determined by colorimetric assay using the Xylidyl blue method and a clinical chemistry analyzer (Advia 1800 Chemistry System, Siemens, Tarrytown, NY), with a detection range from 0.5 to 4.2 mEq/L (0.3–2.0 mmol/L). Normal range of serum Mg was defined as 1.5–1.9 mEq/L (0.75 mmol/L–0.95 mmol/L), hypomagnesemia as a serum Mg concentration lower than 1.5 mEq/L (<0.75 mmol/L) and hypermagnesemia as a serum Mg concentration greater than 1.9 mEq/L (>0.95 mmol/L) [28].

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences program for Windows version 25.0 (SPSS, Chicago, IL). Categorical variables were expressed as percentages, chi-square test was used to compare their values and continuous variables were expressed as means \pm standard deviations or median and interquartile range (IQR), from 25th to 75th percentiles. The Kolmogorov–Smirnov test was used to determine the normality of the data distribution. The association between parameters was determined by Spearman's correlation coefficient. The Kaplan–Meier method was used to plot survival curves. The associations between renal function markers and Mg levels with risk of death were examined using Cox proportional hazard regression analysis. Several covariates were selected for analysis as potential confounding variables in our regression analyses. These included age, sex, comorbidities, disease severity, Mg, D-dimer, hs-CRP and lymphocyte count. Statistical charts were generated using GraphPad Prism for Windows version 8.0.1 (San Diego, CA). For all the statistical analyses, $P < 0.05$ was considered significant.

Results

Demographic, clinical characteristics and laboratory data

Demographic, clinical characteristics, symptoms, comorbidities and COVID-19 treatment

Mg, renal function and COVID-19 in diabetes

are summarized for our overall population in *table 1* table 1. Our study included 77 men and 41 women between the ages of 27 and 99 years. In our cohort, 57 (48.3%) patients were non-diabetic and 61 (51.7%) had a previous T2D diagnosis with median duration for the disease of 10.0 (7.0–20.0) years. Twenty (32.8%) T2D patients had

invasive respiration, with a SatO₂ of 81.7 ± 11.5%, PaO₂/FiO₂ ratio of 144.6 ± 86.1 and SOFA of 4.5 ± 3.3. *Table 2* table 2 shows the metabolic parameters, blood counts, coagulation and inflammatory markers of our patients with T2D and non-diabetic subjects. T2D patients had higher plasma glucose, total and direct bilirubin

Table 1. Cohort demographics, clinical characteristics, symptoms, comorbidities and treatment. Data are shown as means ± standard deviation or median and interquartile range (IQR). Abbreviations: body mass index (BMI); oxygen saturation (SatO₂); partial pressure of oxygen/fraction of inspired oxygen (PaO₂/FiO₂); sequential organ failure assessment (SOFA).

Demographic characteristics	
Age (years)	64.2 ± 13.9
Sex Male n (%)	77 (65.3)
BMI (Kg/m ²)	28.0 ± 4.9
Clinical characteristics	
SatO ₂ (%)	88.0 ± 10.4
PaO ₂ /FiO ₂ ratio	208.9 ± 111.1
SOFA	3.0 ± 2.2
Respiratory rate (breaths/min)	22.0 (19.0 – 25.2)
Cardiac rate (beats/min)	80.0 (70.0 – 90.0)
Systolic blood pressure (mm Hg)	119.8 ± 17.3
Dyastolic blood pressure (mm Hg)	70.7 ± 11.6
Invasive respiration n (%)	40 (33.9)
Death n (%)	46 (39.0)
Symptoms n (%)	
Dyspnea	92 (78.0)
Myalgia	78 (66.1)
Arthralgia	77 (65.3)
Fatigue	71 (60.2)
Cough	67 (56.8)
Headache	47 (39.8)
Fever	45 (38.1)
Odynophagia	39 (33.1)
Comorbidities n (%)	
Overweight or obesity	85 (72.0)
Hypertension	68 (57.6)
Smoking	19 (16.1)
Kidney chronic disease	8 (6.8)
COVID-19 treatment n (%)	
Glucocorticoids	74 (62.7)
Azthromycin	28 (23.7)
Hydrochloroquine	23 (19.5)
Oseltamivir	12 (10.2)

PP. PEREZ, ET AL.

Table 2. Metabolic evaluation, blood cell counts and markers of coagulation and inflammatory response and renal function in type 2 diabetes (T2D) and non-diabetic COVID-19 patients. Data were presented means \pm standard deviation or median and interquartile range (IQR). The comparison between the groups were analyzed by Kruskal-Wallis test or one-way ANOVA test. $P < 0.05$ was considered significant. Abbreviations: total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), prothrombin (PT), partial thromboplastin time (PTT), high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and blood urea nitrogen (BUN).

Parameter	Non-diabetics (n=57)	T2D (n=61)	P value
Metabolic Characteristics			
Glucose (mg/dL)	11.9 (98.5 - 141.0)	153.0 (118.0 - 216.0)	< 0.001
Uric acid (mg/dL)	5.0 (3.5 - 7.8)	5.2 (3.4 - 8.1)	0.561
Cholesterol (mg/dL)	132.0 (112.0 - 158.0)	123.0 (101.0 - 146.5)	0.093
TB (mg/dL)	0.6 (0.4 - 0.8)	0.7 (0.5 - 1.1)	0.032
DB (mg/dL)	0.2 (0.1 - 0.3)	0.3 (0.2 - 0.4)	0.019
ALT (U/L)	45.0 (28.0 - 55.7)	28.0 (21.0 - 61.0)	0.151
AST (U/L)	45. (27.5 - 77.5)	44 (31.5 - 70.0)	0.910
Blood cell counts			
Erythrocytes (x 10⁶/μL)	4.8 (4.2 - 5.2)	4.5 (3.9 - 4.9)	0.009
Neutrophils (x 10³/μL)	6.8 (4.8 - 11.0)	8.6 (6.2 - 12.8)	0.027
Leucocytes (x 10 ³ / μ L)	8.5 (6.7 - 13.3)	8.3 (5.4 - 12.5)	0.620
Lymphocytes (x 10³/μL)	1.0 (0.4 - 1.7)	0.7 (0.3 - 0.9)	0.007
Platelets (x 10³/μL)	226.0 (133.0 - 305.5)	278.0 (189.5 - 384.0)	0.011
Coagulation and inflammation markers			
PT (seconds)	14.4 (13.6 - 16.1)	15.3 (13.7 - 16.5)	0.120
PTT (seconds)	31.4 (26.9 - 35.8)	33.6 (28.6 - 38.0)	0.128
D-dimer (ng/mL)	432.0 (273.0 - 264.0)	916.0 (426.0 - 2001.0)	<0.001
hs-CRP (mg/dL)	15.2 (9.2 - 18.1)	21.4 (15.6 - 28.3)	<0.001
Procalcitonin (ng/mL)	0.3 (0.2 - 0.9)	1.1 (0.3 - 2.7)	0.001
Renal markers			
Sodium (mEq/L)	136.9 \pm 5.6	135.2 \pm 6.1	0.114
Potassium (mEq/L)	4.2 (4.0 - 5.1)	4.0 (3.5 - 4.4)	0.009
Magnesium (mEq/L)	2.1 \pm 0.3	1.9 \pm 0.3	0.012
Calcium (mEq/L)	8.2 (8.0 - 8.7)	8.4 (8.0 - 8.8)	0.355
Urea (mg/dL)	33.1 (23.5 - 57.7)	55.6 (36.3 - 95.5)	0.001
BUN (mg/dL)	15.5 (11.0 - 27.0)	24.4 (17.0 - 42.0)	0.002
Creatinine (mg/dL)	0.8 (0.6 - 1.1)	1.1 (0.8 - 1.6)	0.008

and neutrophils and increased pro-thrombotic and inflammatory status (high levels of platelets, D-dimer, hs-CRP and procalcitonin) than non-diabetic subjects. Comparative analyses showed that SatO₂ was significantly lower in T2D patients when compared to non-diabetic subjects (85.4 \pm 12.1 vs 90.9 \pm 7.4%, $P = 0.004$). Also, T2D patients had increased organ failure as estimated by SOFA score when compared

to non-diabetic patients (3.4 \pm 2.5 vs. 2.6 \pm 1.9, $P = 0.048$).

Markers of renal function

In our cohort, we found that 76 (70.3%) patients had renal alterations. Twenty-seven (22.9%) subjects had mildly decreased kidney function

defined by eGFR of 89 to 60 mL/min per 1.73 m² and 49 (41.5%) patients had **disordered kidney function** defined by eGRF <60 mL/min per 1.73 m². T2D patients had higher levels of urea, BUN and creatinine than non-diabetic subjects (*table 2*). However, we observed that T2D patients had lower eGFR than non-diabetics subjects (59.7 ± 32.8 vs. 78.4 ± 33.8 mL/min per 1.73 m², P = 0.008) (*figure 1a*).

The mean serum Mg concentration of our total population was 2.0 ± 0.3 mEq/L. Hypomagnesemia (defined as serum Mg levels <1.5 mEq/L) was found in six (5.1%) patients and hypermagnesemia (Mg levels >1.9 mEq/L) in 34 (28.8%) patients, whereas 78 (66.1%) patients had “normal” serum Mg levels. In T2D patients, we found lower Mg levels compared to non-diabetics (1.9 ± 0.3 vs. 2.1 ± 0.3 mEq/L, P = 0.012) (*figure 1b*). Correlation analyses of Mg levels and markers of renal function show that Mg levels were associated with potassium (Rho: 0.391, P = 0.002), urea (Rho: 0.389, P = 0.002) and BUN (Rho: 0.282, P = 0.029) in T2D patients. Mg levels correlated with creatinine (Rho: 0.330, P = 0.009) and eGFR (Rho: -0.384, P = 0.002) in T2D patients (*figure 2*). No significant correlation was observed for Mg levels and renal markers in non-diabetic subjects. In addition, T2D patients showed that Mg levels were associated with organ failure as measured by SOFA score (Rho: 0.388, P = 0.002), with lung injury determined by PaO₂/FiO₂ (Rho: 0.390, P = 0.002) and with inflammatory markers [hs-CRP (Rho: 0.391, P = 0.002) and procalcitonin (Rho: 0.257, P = 0.046)].

In our cohort, 26 (42.6%) T2D patients died at a median time of 9.5 ± 5.9 days. The complications associated with death included septic shock (14, 53.9%), acute respiratory distress syndrome (6, 23.1%), pneumonia (4, 15.3%) and disseminated intravascular coagulation (2, 7.7%). Kaplan-Meier survival analyses in non-diabetic and T2D patients according to eGRF showed a log-rank test for global analyses of P < 0.0001 and log-rank test between each group of P = 0.0117, indicating a poorer survival among T2D patients with eGFR levels less than 60 mL/min per 1.73 m² (*figure 3*). The multivariate Cox regression adjusted by age, sex and BMI showed a significant association between increased risk of death and eGFR (HR 0.973, 95% CI 0.957 to 0.990, P = 0.002), creatinine (HR 0.662, 95% CI 0.7333 to 0.979, P = 0.035)

and Mg levels (HR 8.025, 95% CI 1.292 to 10.775, P = 0.002).

Discussion

Our results support the hypothesis that COVID-19 patients with T2D as compared to non-diabetic subjects show impaired renal function and low serum Mg levels. These markers were associated with increased mortality in a cohort of central Mexican patients hospitalized with COVID-19. Our data support and extend the growing information that kidney disease is a common complication among hospitalized COVID-19 patients and an important risk factor for COVID-19-related mortality [13, 29-32]. We observed that at admission more than 70.0% patients had renal alterations: 22.9% had mildly decreased kidney function (eGFR of 89 to 60 mL/min per 1.73 m²) and 41.5% had disordered kidney function (eGRF <60 mL/min per 1.73 m²). However, the mechanisms to explain the kidney dysfunction in COVID-19 remain unclear.

Angiotensin-converting enzyme 2 (**ACE2**), a receptor for SARS-CoV-2 [33], is highly expressed in the respiratory system [33] and various other tissues in the body including the kidney [34]. ACE2 expression is increased by approximately twofold in the diabetic kidney [35] and as such may be a key determinant of infectivity and worsening of local inflammatory responses affecting kidney function.

In our cohort, approximately 30% had hypermagnesemia, but we did not find any significant relationship with any metabolic parameters, inflammatory response or renal function in our COVID-19 patients with or without T2D. Only 5.1% of patients presented with hypomagnesemia. However, in our T2D patients, we found significantly lower levels of serum Mg when compared to non-diabetic patients. To the best of our knowledge, there are few reports examining Mg status in COVID-19 patients. Quilliot et al. reported a high prevalence of Mg deficiency (48%, defined as Mg levels below 1.5 mEq/L) and proposed that low circulating Mg levels may contribute to COVID-19 disease severity in hospitalized patients [28]. Alamdari et al. in a retrospective study on SARS-CoV-2 patients conducted in Iran, which included approximately 25.1% diabetic patients, reported that hypomagnesemia was a risk factor for mortality in

PP. PEREZ, ET AL.

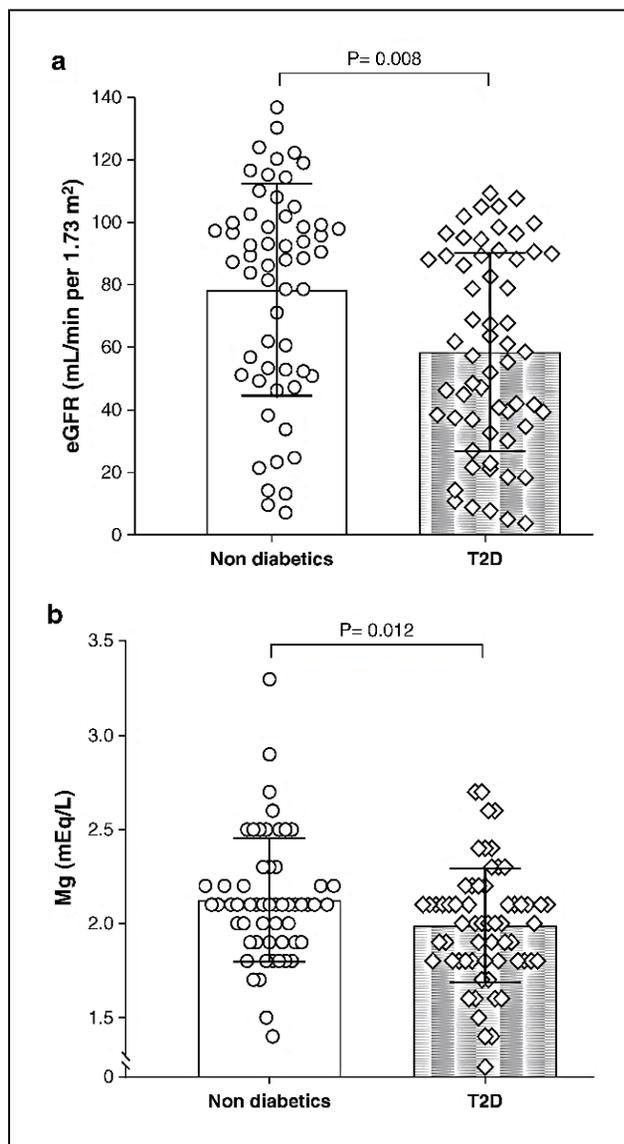


Figure 1. Comparative analysis of COVID-19 patients with type 2 diabetes (T2D) and non-diabetic. a: Estimated glomerular filtration rate (eGFR) and b: circulating magnesium (Mg) levels. Data were presented means \pm standard deviation. The comparison between the groups were analyzed by one-way ANOVA test. $P < 0.05$ was considered significant.

these patients [36]. Likewise, Sarvazad H et al. showed that 32% of hospitalized COVID-19 positive individuals with no underlying disease had hypomagnesemia [37]. These studies are of clinical relevance as hypomagnesemia is

common among hospitalized non-COVID-19 patients [38, 39]. However, others have documented that hypomagnesemia has been underestimated and that underdiagnosis is common [40-42]. It is important to recognize that

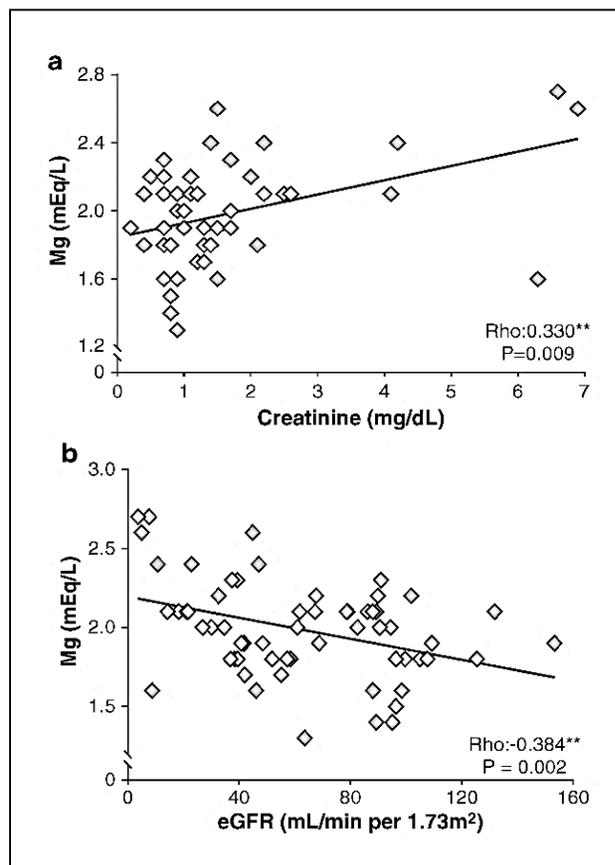


Figure 2. Magnesium levels correlate with a) creatinine and b) estimated glomerular filtration rate (eGFR) in COVID-19 patients with type 2 diabetes (T2D). The association between parameters was determined by Spearman's correlation coefficient. $P < 0.05$ was considered significant.

hypermagnesemia has likewise been reported to be a strong predictor for poor outcomes in critically ill hospitalized patients and with potentially deleterious effects on heart failure and chronic kidney disease [43-45]. Indeed, it is proposed that more than one-fourth of general hospitalized patients develop serum magnesium disorders [38].

Mg deficiency is commonly reported among diabetic patients [46] and associated with poor dietary Mg intake, poor glycemic control and kidney disease [15, 46, 47]. During SARS-Cov-2, Mg metabolism worsens, the plausible explanations included severe inflammation, glycemic decompensation and cortisone therapy [48-50]. Low Mg levels have been reported to be

associated with an activated inflammatory status [48, 51]. Hypomagnesemia in critical illness results in an exaggerated inflammatory response characterized by increased plasma levels of IL-6 and acute phase proteins such as hs-CRP and procalcitonin [48, 52]. In our study, circulating hs-CRP and procalcitonin were increased and correlated with eGFR and Mg levels in T2D patients. Consequently, the low Mg levels observed in our T2D patients may exacerbate renal SARS-CoV-2-induced inflammatory responses. This in turn may promote further release of proinflammatory molecules and cytokine-mediated damage leading to increased COVID-19 disease severity. In addition, our T2D patients show high levels of D-dimer

PP. PEREZ, ET AL.

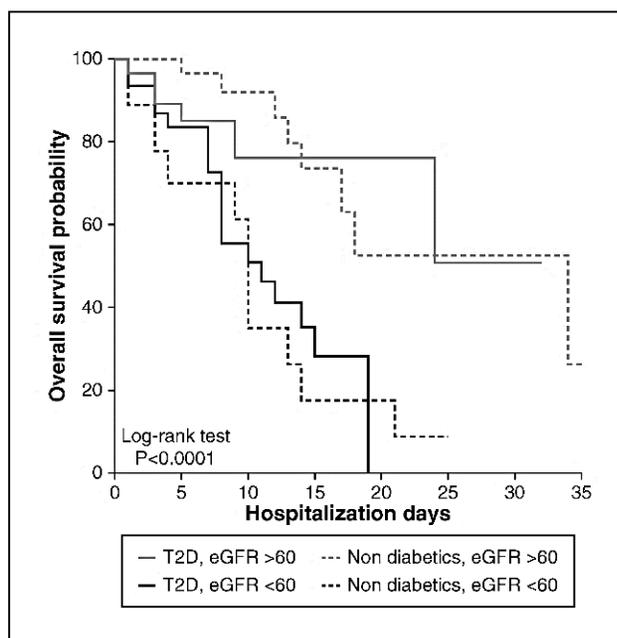


Figure 3. Kaplan-Meier survival analyses in COVID-19 patients with and without type 2 diabetes (T2D) grouped by eGFR <60 mL/min per 1.73 m². Log-rank test global of $P<0.0001$ and log-rank test between each group were $P=0.0117$.

and platelets that combined with low levels of Mg might create a favorable microenvironment for the virus to also promote enhanced pro-thrombotic responses [53] and, consequently, contribute to increased COVID-19 disease severity and related mortality. In addition, lower serum Mg levels are associated with faster decline of renal function in non-COVID-19 patients with T2D [54]. Of importance, our COVID-19 patients with T2D and eGFR levels less than 60 mL/min per 1.73 m² were particularly susceptible to poor survival rates. The Cox model for our T2D population showed that eGFR and Mg levels were associated with significantly increased risk of death.

Limitations

Our study has some limitations. First, this study is a cross-sectional study in which the cause and effect cannot be determined. However, and to the best of our knowledge, our study is the first to show simultaneous measurements of renal function and Mg levels in T2D patients with

COVID-19. Also, we cannot rule out that the prevalence of renal alterations at admission in our cohort may be the result of undiagnosed renal history among our population.

Conclusion

Our analyses provide critical information regarding renal dysfunction and Mg levels in patients with T2D and COVID-19. Reduced eGFR and Mg levels were associated with increased mortality in our population. These results suggest that early assessment and careful monitoring of kidney function including assessment of Mg homeostasis status may assist in the development of effective treatment strategies to reduce morbidity and mortality among Latin American COVID-19 patients with T2D.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interests.

Data accessibility statement

The datasets used during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request and will be considered on a case-by-case basis from qualified researchers with institutional review board approvals and executed institutional data transfer agreements.

Acknowledgements

We thank the Autonomous University of Puebla, the University Hospital of Puebla and all the members of the respiratory annex, both medical and non-medical workers, as well as the clinical laboratory department of this institution. Our special thanks to the patients, their family members, internal medicine residents, physicians and nurses for their great support in the fight against this disease.

Author contribution statement

PPP, JAPA, MEHH, ETR and JRR designed research studies. JAPA and ETR provided clinical care. PPP, JAPA, MEHH and ETR performed data curation, analyses and contributed to data interpretation. PPP and JRR wrote original manuscript draft. All authors contributed to the review and editing of the final manuscript.

References

1. Johns Hopkins University & Medicine. *Coronavirus resource center. Global cases*. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/> [accessed date: May 22, 2021].
2. Carethers JM. Insights into disparities observed with COVID-19. *J Intern Med* 2021; 289(4):463-73.
3. U.S. Department of health and human services office of minority health. *Diabetes and hispanic Americans*. Available from: <https://minorityhealth.hhs.gov/omh/browse.aspx?lvl=4&lvlid=63> [accessed date: May 22, 2021].
4. Alegre-Díaz J, Herrington W, López-Cervantes M, et al. Diabetes and cause-specific mortality in Mexico city. *N Engl J Med* 2016; 375(20):1961-71.
5. Scheen AJ, Marre M, Thivolet C. Prognostic factors in patients with diabetes hospitalized for COVID-19: findings from the CORONADO study and other recent reports. *Diabetes Metab* 2020; 46(4):265-71.
6. Yan Y, Yang Y, Wang F, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients with severe covid-19 with diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2020; 8(1):e001343.
7. *Official website of the secretary of health Mexico*. Available from: <https://coronavirus.gob.mx> and <https://datos.covid-19.conacyt.mx/>. [accessed date: May 22, 2021]
8. Singh AK, Khunti K. Assessment of risk, severity, mortality, glycemic control and antidiabetic agents in patients with diabetes and COVID-19: a narrative review. *Diabetes Res Clin Pract* 2020; 165 : 108266.
9. Lontchi-Yimagou E, Sobngwi E, Matsha TE, Kengne AP. Diabetes mellitus and inflammation. *Curr Diab Rep* 2013; 13(3):435-44.
10. Iotti S, Wolf F, Mazur A, Maier JA. The COVID-19 pandemic: is there a role for magnesium? Hypotheses and perspectives. *Magnes Res* 2020; 33(2): 21-7.
11. Gupta S, Koirala J, Khardori R, Khardori N. Infections in diabetes mellitus and hyperglycemia. *Infect Dis Clin North Am* 2007; 21(3):617-38.
12. Albuлесcu R, Dima SO, Florea IR, et al. COVID-19 and diabetes mellitus: unraveling the hypotheses that worsen the prognosis (review). *Exp Ther Med* 2020; 20(6):194.
13. Menon R, Otto EA, Sealfon R, et al. SARS-CoV-2 receptor networks in diabetic and COVID-19-associated kidney disease. *Kidney Int* 2020; 98(6):1502-18.
14. Carlson N, Nelveg-Kristensen KE, Freese Ballegaard E, et al. Increased vulnerability to COVID-19 in chronic kidney disease. *J Intern Med* 2021; 16 : 10.
15. Sakaguchi Y, Shoji T, Hayashi T, et al. Hypomagnesemia in type 2 diabetic nephropathy: a novel predictor of end-stage renal disease. *Diabetes Care* 2012; 35(7):1591-7.
16. Durlach J, Collery P. Magnesium and potassium in diabetes and carbohydrate metabolism. Review of the present status and recent results. *Magnesium* 1984; 3(4-6):315-23.
17. Gommers LMM, Hoenderop JGJ, Bindels RJM, de Baaij JHF. Hypomagnesemia in type 2 diabetes: a vicious circle? *Diabetes* 2016; 65(1):3-13.
18. Wu J, Xun P, Tang Q, Cai W, He K. Circulating magnesium levels and incidence of coronary heart diseases, hypertension, and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutr J* 2017; 16(1):60.

PP. PEREZ, ET AL.

19. Fang X, Wang K, Han D, *et al.* Dietary magnesium intake and the risk of cardiovascular disease, type 2 diabetes, and all-cause mortality: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Med* 2016; 14(1):210.
20. de Baaij JH, Hoenderop JG, Bindels RJ. Regulation of magnesium balance: lessons learned from human genetic disease. *Clin Kidney J* 2012; 5 (Suppl 1):i15-24.
21. Sanche S, Lin YT, Xu C, Romero-Severson E, Hengartner N, Ke R. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg Infect Dis* 2020; 26(7):1470-7.
22. Corman VM, Landt O, Kaiser M, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25(3):2000045.
23. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol* 2008; 61(4):344-9.
24. Caironi P, Carlesso E, Cressoni M, *et al.* Lung recruitability is better estimated according to the berlin definition of acute respiratory distress syndrome at standard 5cm H₂O rather than higher positive end-expiratory pressure: a retrospective cohort study. *Crit Care Med* 2015; 43(4):781-90.
25. Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Crit Care* 2019; 23(1):374.
26. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150(9):604-12.
27. Levey AS, Coresh J, Balk E, *et al.* National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003; 139(2):137-47.
28. Quilliot D, Bonsack O, Jaussaud R, Mazur A. Dymagnesemia in COVID-19 cohort patients: prevalence and associated factors. *Magnes Res* 2020; 33(4):114-22.
29. Nadim MK, Forni LG, Mehta RL, *et al.* COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th acute disease quality initiative (ADQI) workgroup. *Nat Rev Nephrol* 2020; 16(12): 747-64.
30. Pei G, Zhang Z, Peng J, *et al.* Renal involvement and early prognosis in patients with COVID-19 pneumonia. *J Am Soc Nephrol* 2020; 31(6):1157-65.
31. Hansrivijit P, Qian C, Boonpheng B, *et al.* Incidence of acute kidney injury and its association with mortality in patients with COVID-19: a meta-analysis. *J Investig Med* 2020; 68(7):1261-70.
32. Carlson N, Nelveg-Kristensen K-E, Freese Ballegaard E, *et al.* Increased vulnerability to Covid-19 in chronic kidney disease. *J Intern Med* 2021 Jan 16:10.1111/joim.13239. doi: 10.1111/joim.13239. Epub ahead of print.
33. Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system: celebrating the 20th anniversary of the discovery of ACE2. *Circ Res* 2020; 126(10):1456-74.
34. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol* 2020; 16(7):e9610.
35. Gilbert RE, Caldwell L, Misra PS, *et al.* Overexpression of the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 receptor, angiotensin-converting enzyme 2, in diabetic kidney disease: implications for kidney injury in novel coronavirus disease 2019. *Can J Diabetes* 2020; 45(2):162-166.e1.
36. Alamdari NM, Afaghi S, Rahimi FS, *et al.* Mortality risk factors among hospitalized COVID-19 patients in a major referral center in Iran. *Tohoku J Exp Med* 2020; 252(1):73-84.
37. Sarvazad H, Cahngaripour SH, Eskandari Roozbahani N, Izadi B. Evaluation of electrolyte status of sodium, potassium and magnesium, and fasting blood sugar at the initial admission of individuals with COVID-19 without underlying disease in Golestan Hospital, Kermanshah. *New Microbes New Infect* 2020; 38 : 100807.
38. Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Chewcharat A, *et al.* Hospital-acquired dymagnesemia and in-hospital mortality. *Med Sci (Basel)* 2020; 8 (3):37.
39. Thongprayoon C, Cheungpasitporn W, Erickson SB. Admission hypomagnesemia linked to septic shock in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Ren Fail* 2015; 37(9):1518-21.
40. DiNicolantonio JJ, O'Keefe JH, Wilson W. Sub-clinical magnesium deficiency: a principal driver of cardiovascular disease and a public health crisis. *Open Heart* 2018; 5(1):e000668.
41. Da Tsai MW, Yang CQ, Stark CM. Extreme hypomagnesemia: underrecognized and underappreciated. *Intern Emerg Med* 2018; 13(8):1173-4.
42. Pham PC, Pham PA, Pham SV, Pham PT, Pham PM, Pham PT. Hypomagnesemia: a clinical perspective. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014; 7 : 219-30.
43. Galán I, Vega A, Goicoechea M, *et al.* Impact of serum magnesium levels on kidney and cardiovascular prognosis and mortality in CKD patients. *J Ren Nutr* 2020; S1051-2276(20):30266-71.
44. Haider DG, Lindner G, Ahmad SS, *et al.* Hypomagnesemia is a strong independent risk factor for mortality in critically ill patients: results from a

Mg, renal function and COVID-19 in diabetes

- cross-sectional study. *Eur J Intern Med* 2015; 26 (7):504-7.
45. Cheungpasitporn W, Thongprayoon C, Qian Q. Dysmagnesemia in hospitalized patients: prevalence and prognostic importance. *Mayo Clin Proc* 2015; 90(8):1001-10.
46. Arpacı D, Tocoglu AG, Ergenc H, Korkmaz S, Ucar A, Tamer A. Associations of serum magnesium levels with diabetes mellitus and diabetic complications. *Hippokratia* 2015; 19(2):153-7.
47. Tosiello L. Hypomagnesemia and diabetes mellitus: a review of clinical implications. *Arch Intern Med* 1996; 156(11):1143-8.
48. Maier JA, Castiglioni S, Locatelli L, Zocchi M, Mazur A. Magnesium and inflammation: advances and perspectives. *Semin Cell Dev Biol* 2020; S1084-9521(20):30171-3.
49. Wang W, Shen M, Tao Y, *et al.* Elevated glucose level leads to rapid COVID-19 progression and high fatality. *BMC Pulm Med* 2021; 21(1):64.
50. Alessi J, de Oliveira GB, Schaan BD, Telo GH. Dexamethasone in the era of COVID-19: friend or foe? An essay on the effects of dexamethasone and the potential risks of its inadvertent use in patients with diabetes. *Diabetol Metab Syndr* 2020; 12 : 80.
51. Tam M, Gómez S, González-Gross M, Marcos A. Possible roles of magnesium on the immune system. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(10):1193-7.
52. Hui L, Zhang X, An X, *et al.* Higher serum procalcitonin and IL-6 levels predict worse diagnosis for acute respiratory distress syndrome patients with multiple organ dysfunction. *Int J Clin Exp Pathol* 2017; 10(7):7401-7.
53. Wolff D, Nee S, Hickey NS, Marschollek M. Risk factors for COVID-19 severity and fatality: a structured literature review. *Infection* 2021; 49 (1):15-28.
54. Pham PC, Pham PM, Pham PA, *et al.* Lower serum magnesium levels are associated with more rapid decline of renal function in patients with diabetes mellitus type 2. *Clin Nephrol* 2005; 63(6):429-36.