

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

MÉDICO CIRUJANO

DEPARTAMENTO DE EVALUACIÓN PROFESIONAL



**RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LA PROTEINA DE UNIÓN A  
VITAMINA D E ÍNDICE HOMA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DEL  
ESTADO DE MÉXICO**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO

PRESENTA:

**JAZMIN GUADALUPE EMETERIO ALCÁZAR**

DIRECTORES:

**DRA. EN CS ANA LAURA GUADARRAMA LÓPEZ**

**DRA. EN C. ROXANA VALDÉS RAMOS**

REVISORES:

**DR. EN C. AURELIO MEDELLIN MENDOZA**

**M. EN C. MARCELA HERNANDEZ SANCHEZ**

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO; 2016.

## ÍNDICE

DEDICATORIAS.....	1
AGRADECIMIENTOS.....	2
ÍNDICE .....	3
RESUMEN .....	4
ABSTRACT .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
2. MARCO TEORICO.....	7
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
4. HIPÓTESIS.....	22
5. OBJETIVOS .....	22
6. JUSTIFICACIÓN .....	23
8. MATERIAL Y MÉTODOS. ....	24
8.1. Diseño de Estudio .....	24
8.2. Procedimientos .....	25
8.3. Variables de Estudio.....	27
8.4. Operacionalización de las variables.....	28
8.5. Recolección de Datos.....	30
8.6. Análisis Estadístico .....	30
8.7. Implicaciones Bioéticas.....	30
8.8. Presupuesto y Financiamiento .....	31
8.9. Infraestructura y disponibilidad .....	31
9. RESULTADOS.....	32
9.1 TABLAS DE RESULTADOS.....	35
10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	38
11. CONCLUSIONES.....	43
12. RECOMEDACIONES.....	44
13. BIBLIOGRAFÍA .....	45
14. ANEXOS .....	48

## RESUMEN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) se ha convertido en la gran epidemia del presente siglo; entendiéndose no solo como una afección más del ser humano mismo sino como una patología transcendental que genera grandes problemáticas de salud pública y costosas políticas públicas.

Derivado de la gran incidencia de pacientes diagnosticados con DMT2 se ha intentado encontrar todas las vías fisiopatológicas de esta enfermedad en busca de una mejora en el control de la enfermedad; entre estas líneas de investigación ha surgido en las últimas décadas investigación científica formal que avala el papel de la vitamina D dentro de sus efectos denominados no clásicos en la secreción de insulina. Por otra parte, se ha definido ya como epidemia de hipovitaminosis a nivel mundial no solo en países nórdicos si no también derivado del bajo consumo de la misma.

**OBJETIVO:** Describir la relación entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D con el índice HOMA – IR y HOMA - B en pacientes del Estado de México.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal con una muestra de 100 pacientes de los cuales se conformaron dos grupos cada uno con 50 pacientes clasificados de acuerdo a su IMC en normo peso (DMT2 NP) y sobrepeso (DMT2 SP); se realizaron mediciones antropométricas, bioquímicas y a partir de estas el cálculo de los índices HOMA - B y HOMA – IR, así como cuantificación de proteína de unión a vitamina D.

**RESULTADOS:** Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones séricas de glucosa  $195.8 \pm 71.2$  para DMT2 NP vs  $165.4 \pm 50.9$  para DMT2 SP ( $p = 0.038$ ); así como para el índice HOMA – IR encontrándose para el grupo DMT2 NP  $3.41 \pm 1.9$  vs  $3.08 \pm 1.65$  DMT2 SP ( $p = 0.093$ ); mientras que para el índice HOMA – B se observó para el grupo DMT2 NP un índice de  $31.65 \pm 47.6$  vs DMT2 SP con  $31.08 \pm 19.7$  ( $p = 0.031$ ). No se encontraron diferencias para la proteína de unión a vitamina D. No se encontró asociación entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D y la resistencia a la insulina o con el funcionamiento de las células beta.

## ABSTRACT

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) has become the major epidemic of this century; to be known not only as a condition to the man itself, yet as a transcendental pathology that engenders large public health problems and overpriced public policy.

Resulting from the high incidence of patients diagnosed with T2DM, it had been trying to find all the pathophysiological pathways of T2DM in search of an improvement in disease control; between these lines of research has emerged in recent decades formal scientific research that support the role of vitamin D in their nonclassical known effects on insulin secretion. On the other hand, it has already defined as hipovitaminosis epidemic worldwide not only in Nordic countries but also derived from the low consumption of it.

**OBJECTIVE:** To describe the relationship between serum binding protein to vitamin D with HOMA – IR y HOMA – B in patients from State of Mexico.

**MATERIALS AND METHODS:** An observational, descriptive cross-sectional study was conducted with a sample of 100 patients which were formed two groups each one with 50 patients classified according to their BMI normoweight (T2DM NW) and overweight (T2DM OW); anthropometric, biochemical and from these calculate HOMA - B and HOMA - IR index measurements were made also protein binding to vitamin D was quantitated.

**RESULTS:** Significant differences in serum glucose  $195.8 \pm 71.2$  to  $165.4 \pm$  T2DM NW vs 50.9 for T2DM OW ( $p = 0.038$ ) were found; as well as HOMA - IR meeting for the T2DM NW group  $\pm 1.9$  vs  $3.41$   $3.08 \pm 1.65$  T2DM OW ( $p = 0.093$ ); while for HOMA - B was observed for NW group T2DM an index of  $47.6 \pm 31.65$  vs  $31.08 \pm$  T2DM OW with 19.7 ( $p = 0.031$ ). No significant difference was found for binding protein. No association between serum binding protein and vitamin D, insulin resistance or with functioning beta cells was found.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una de las enfermedades que actualmente aquejan a la población mexicana es la Diabetes Mellitus. Para fines del presente trabajo la Diabetes Mellitus Tipo 2, esta enfermedad crónica – degenerativa se está posicionando dentro de las primeras causas de mortalidad a nivel no solo nacional sino también con el mismo comportamiento de forma global; más grave aún es una de las primeras causas de discapacidad adquirida en pacientes en edad económicamente activa lo que repercute en el progreso económico del país; además genera grandes costos en salud pública.

Por todos estos motivos es que se hacen diariamente esfuerzos por delimitar cada línea en la fisiopatogenia de la DMT2 con el fin de incidir en la mayor parte de los aspectos que logren un mejor control de la enfermedad en los pacientes a un bajo costo y con factibilidad de adquisición; más aún estrategias que retrasen el desarrollo de complicaciones micro y macro musculares que desencadenan en la incapacidad y muerte.

Una de estas líneas de investigación que ha resultado de gran interés en las últimas décadas es la influencia de la Vitamina D sobre las células beta pancreáticas estimulándolas para aumentar la secreción de insulina, esto mediado por canales no selectivos de calcio dependientes de voltaje; bajo el paradigma de que existe  $1\alpha$  - hidroxilasa en las células beta. Todo esto tomando en cuenta las acciones no clásicas de la vitamina D, es decir acciones inmunológicas y antiinflamatorias, que se postula pudieran mejorar además el perfil del paciente con DMT2.

Por tanto el presente trabajo de investigación, que es un estudio transversal que parte de otro macroproyecto, pretende verificar la relación que existe entre las concentraciones séricas de vitamina D mediante la cuantificación de su proteína de unión (proteína con la que se une con alta afinidad y no se modifica con cambios hormonales externos lo que le confiere confiabilidad de ser medida) con el estado funcional y la reserva de las células beta pancreáticas; de forma indirecta mediante el índice HOMA – B y también con el grado de resistencia a la insulina mediante el índice de HOMA – IR.

El reto hoy en día se encuentra en estandarizar el método de medición de la vitamina D. Este trabajo presenta la medición de proteína de unión a vitamina D mediante técnica ELISA sandwich.

## **2. MARCO TEORICO**

### **IMPACTO EPIDEMIOLOGICO DE LA DMT2.**

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) se ha convertido en la gran epidemia del presente siglo; entendiéndose no solo como una afección más del ser humano mismo sino como una patología transcendental que genera grandes problemáticas de salud pública y costosas políticas públicas.

El panorama epidemiológico de la DMT2 se desarrolla de forma exponencial. A partir de la década de los años 60, la diabetes se ubica dentro de las primeras veinte causas de mortalidad general y desde hace veinte años dentro de las primeras diez (1).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se calculó que en 2014 la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años y que en 2012 fallecieron 1.5 millones de personas como consecuencia directa de la diabetes (2). Respecto al comportamiento de esta enfermedad en México; de acuerdo a los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, existen 6.4 millones de personas con DMT2, de los cuales el 59% pertenecen al sexo femenino, en cuanto el grupo etario de 50-59 años de edad es el más afectado (3). El Instituto Nacional de Estadística y Geografía INEGI reportó para el año 2012, que esta enfermedad constituyó la segunda causa de muerte en la población mexicana, con una tasa de mortalidad de 75 defunciones por cada 100 mil habitantes (4).

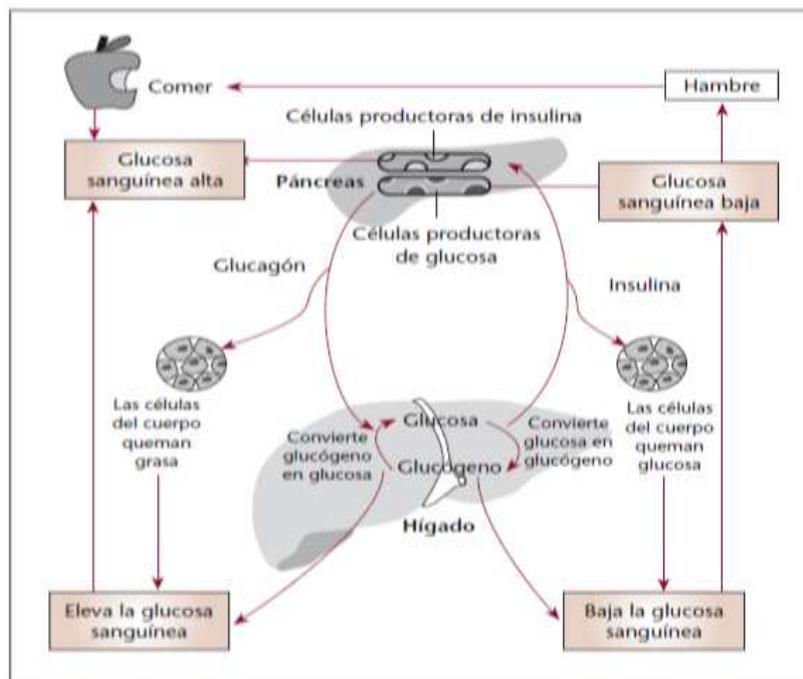
En relación a los costos económicos que esta enfermedad genera, un estudio en México en el año 2010 reportó un gasto anual en costos directos de atención médica en pacientes con DMT2 de US\$ 452 064 988, con un costo promedio anual por paciente de US \$3 193,75 (5).

### **FISIOPATOLOGIA DE LA DMT2**

Dentro de la fisiopatología se deben conocer tanto los factores bioquímicos como las interacciones celulares en el metabolismo de los hidratos de carbono y la insulina, cuya disfunción lleva a la expresión clínica de la Diabetes Mellitus, en este documento se abordará específicamente la DMT2.

Las causas que desencadenan la DMT2 se desconocen en el 70-85% de los pacientes; al parecer, influyen diversos factores como la herencia poligénica (en la que participa un

número indeterminado de genes), junto con factores de riesgo que incluyen obesidad, dislipidemia, hipertensión arterial, historia familiar de diabetes, dieta rica en hidratos de carbono, factores hormonales y una vida sedentaria. Estos pacientes presentan concentraciones elevadas de glucosa y resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos (6).



**Figura 1.** Respuesta fisiológica de la insulina. La insulina presenta dos fases de secreción dependientes de las concentraciones de glucosa en plasma y el estado de ayuno o postprandio; esto es, inmediatamente después de ingerir alimentos, se secreta insulina desde las células beta a la circulación portal, alcanzando insulinemias que controlan la hiperglicemia; mientras que durante el período de ayuno, la insulina, conocida en esta fase como insulina basal, inhibe la neoglucogénesis hepática y evita la hiperglicemia en ayuno (7).

De forma fisiológica en respuesta a un cambio en la concentración de glucosa la insulina se libera en dos fases. En la primera fase se da una breve secreción de insulina desde las células beta a la circulación portal, la cual disminuye la concentración de glucosa inmediatamente después de ingerir alimentos, alcanzándose así concentraciones elevadas de insulina plasmática, con concentraciones máximas de hasta 80  $\mu\text{U}/\text{mL}$  a los 30 min con una posterior disminución. Más tarde, en una segunda fase más sostenida, la insulina se libera proporcionalmente a la elevación de glucosa en plasma; en ésta, la insulina secretada se une a las células del tejido adiposo y músculo, estimulando la entrada de nutrientes a la célula y evitando así un incremento excesivo de la glucemia posprandial (7).

Después de una comida, el intestino secreta las hormonas llamadas incretinas (péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) que potencian la secreción de insulina. Se ha demostrado que la secreción de GLP-1 se satura en

pacientes diabéticos o con sobrepeso, por ello el tratamiento con análogos de GLP-1 puede normalizar la hiperglucemia mediante la estimulación de la secreción de insulina en pacientes diabéticos y al retrasar el vaciamiento gástrico (8).

Además la DMT2 se asocia con una falta de adaptación de la célula beta al incremento en la demanda de insulina, con pérdida de masa celular por la glucotoxicidad. Se agrega también que el receptor de insulina presenta alteraciones en su función. Cuando la insulina se une a su receptor en células del músculo, inicia las vías de señalización complejas que permiten la translocación del transportador GLUT4 localizado en vesículas, hacia la membrana plasmática para llevar a cabo su función de transportar la glucosa de la sangre al interior de la célula. La señalización del receptor termina cuando es fosforilado en los residuos de serina/treonina en la región intracelular para su desensibilización, y finalmente esto permite la internalización del receptor y propicia su acción, misma que se ve mermada en la DMT2 (9) (ver figura 2).

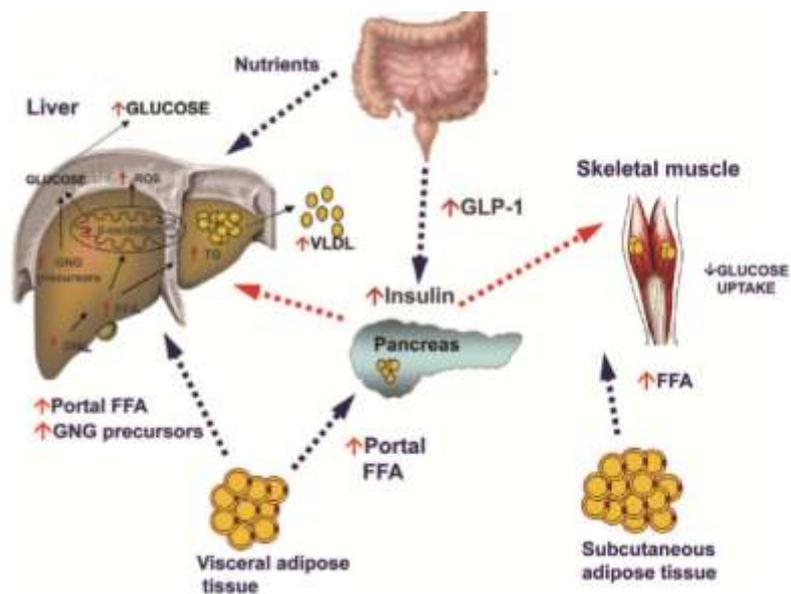


Figura 2. Fisiopatología de la DMT2. El aumento de tejido adiposo y la grasa visceral conduce a la acumulación ectópica de la misma en el hígado, el músculo y el páncreas; teniendo como resultado el aumento en la producción hepática de glucosa, disminución de la absorción de glucosa en el músculo, y alteración de la supresión de la lipólisis (8).

## DISFUNCION DE LAS CELULAS BETA EN LA PATOGENESIS DE DMT2.

El páncreas endocrino consiste en cerca de un millón de pequeñas glándulas endocrinas: los islotes de Langerhans; dispersos a lo largo de la sustancia glandular del páncreas siendo más abundantes en la cabeza pancreática. El volumen de los islotes representa entre 1 y 1.5% de la masa total del páncreas. Se han identificado al menos cinco tipos

celulares:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  y PP, cada uno de estos tipos celulares producen una hormona peptídica distinta: glucagón, insulina, somatostatina, grelina y PP, respectivamente (10).

Las células beta secretoras de insulina representan la mayoría de las células endocrinas de los islotes (60-80%) en un páncreas normal. La célula beta produce y secreta insulina para mantener concentraciones circulantes de glucosa dentro de un estrecho rango fisiológico; esto durante todo el día a una tasa basal y en respuesta a un cambio en la concentración de glucosa (por ejemplo después de una comida) (11).

Desde el punto de vista estructural, la insulina es un polipéptido de 51 aminoácidos que se disponen formando dos cadenas,  $\alpha$  y  $\beta$ , unidas por diferentes puentes disulfuro. La insulina es sintetizada a partir de un precursor de cadena única conocido como proinsulina. Esta síntesis y su posterior almacenamiento tienen lugar en el páncreas, y como se ha mencionado en concreto, en las células beta de los islotes de Langerhans (15).

Se postula que la cantidad de masa de células beta es el resultado del balance entre su crecimiento y destrucción, mismos que dependen por lo menos de 4 factores descritos: 1) la replicación a partir de células diferenciadas 2) neogénesis de células del epitelio ductal 3) tamaño celular 4) tipo de muerte celular ya sea por apoptosis o necrosis. La contribución relativa de cada mecanismo es variable, dependiendo de diversos factores, como la edad, la carga metabólica y la exposición a factores citotóxicos (12). Aún se mantiene en debate si la disfunción en las células beta productoras de insulina es secundaria a la disminución en la masa o a la alteración intrínseca de la misma célula.

Existen dos mecanismos definitivos y bien descritos que determinan el fallo funcional y apoptosis de las células beta; uno de ellos es la lipólisis aumentada, que deriva en aumento de mediadores proinflamatorios y un exceso en la producción de elementos intermedios del metabolismo altamente citotóxicos para la célula, lo que condiciona lipotoxicidad para la célula productora de insulina (13).

Lo anterior se explica por el aumento en la concentración de acil-CoA dentro de las células  $\beta$ , que también estimula la síntesis de óxido nítrico, lo que a su vez incrementa la producción de citocinas con capacidad inflamatoria, incluyendo IL-1 y TNF, que aumenta el deterioro de la función y la apoptosis de las células  $\beta$ ; además la exposición crónica a concentraciones elevadas de acil-CoA, el cual es producto del metabolismo de los ácidos grasos, inhibe la producción de insulina a través del ciclo de Randle (14) (15).

Por otra parte la hiperglucemia por sí sola es capaz de producir trastornos en la secreción de insulina, cualquier aumento en la glucemia en pacientes con disminución en el volumen de células  $\beta$ , puede ocasionar trastornos notables en la secreción de insulina en el tejido pancreático remanente, además contribuye a incrementar la resistencia a la insulina y los defectos en la secreción de la insulina, los cuales se corrigen al reducir las cifras de glucosa (15).

## **LA DMT2 COMO UN PROCESO ASOCIADO A LA INFLAMACION DE BAJO GRADO.**

La evidencia permite concluir que la inflamación en su fase aguda y la mediación de la inmunidad innata son factores angulares en la patogénesis de la DMT2.

El sistema inmunitario innato o natural representa una rápida defensa de primera línea del cuerpo contra las amenazas ambientales como la infección microbiana y daños físicos o químicos. Teniendo como finalidad prevenir el daño tisular permanente, aislar y destruir agentes infecciosos, y activar los procesos de reparación para restaurar la homeostasis. Un componente importante de la inmunidad innata es una serie de células centinela (clásicamente macrófagos, células B presentadoras de antígeno y células dendríticas(16).

La inflamación se define como una cascada de fenómenos inducida en respuesta a diferentes estímulos patológicos y lesión tisular; teniendo como objetivo la restauración anatómica y funcional del área de lesión. La respuesta inflamatoria se divide tradicionalmente en dos fases. La primera, que dura un par de horas es una fase aguda, que por lo general es seguida por la fase crónica. Dicha reacción inflamatoria puede ser medida por los mediadores llamados marcadores plasmáticos de la inflamación entre ellos: recuento leucocitario, la velocidad de sedimentación celular, moléculas de adhesión celular y citocinas (17).

Varios marcadores de la inflamación sistémica se incrementan en la DMT2; entre los más representativos se encuentran la IL-1, el TNF- $\alpha$  y la IL-6; estos están asociados con la progresión de la resistencia a la insulina. Así mismo la inflamación de los islotes pancreáticos, que es un mecanismo patogénico clave en la diabetes mellitus tipo 1, recientemente ha sido reconocido en la génesis de la DMT2 al inhibir de forma irreversible su función (18).

Como se describió previamente, uno de los mecanismos de disminución de las células pancreáticas es la apoptosis y se ha encontrado un aumento en la secreción hepática de

IL-1 $\beta$ , la cual junto con la hiperglucemia induce la disminución funcional de la célula y propicia la muerte celular programada; haciendo a esta interleucina una diana terapéutica en la búsqueda de su antagonista para promover no solo la sobrevivida de las células beta sino también de un aumento en el control glicémico de los pacientes (19).

Dentro del modelo de inflamación propuesto para la DMT2 se toma en cuenta también la dislipidemia determinada por triacilglicéridos totales séricos aumentados así como lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL), además de colesterol total inalterado; este es el mismo patrón glicémico que puede observarse en otras circunstancias patológicas donde se presenta inflamación en su fase aguda (20).

En conclusión, la inflamación en la DMT2 puede explicarse en el modelo diseñado por el Dr. Pickup, el cual propone que bajo ciertos estímulos tales como la edad, raza e incluso la programación fetal (inmunidad innata), se activan citoquinas pro-inflamatorias principalmente IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  las cuales actúan sobre el hígado para producir la dislipidemia característica de la DMT2 ya antes descrita. También promueven la liberación hepática de otras proteínas de fase aguda que son factores de riesgo para el desarrollo aterosclerosis, como el fibrinógeno que en conjunto estimulan la liberación de leptina por el tejido adiposo, y actúan además en el cerebro para liberar la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y cortisol; ambas contribuyen al desarrollo de la obesidad, hipertensión y resistencia a la insulina. El TNF- $\alpha$  también es un factor importante como causa de resistencia a la insulina. Y es entonces que la hipersecreción a largo plazo de las citocinas puede perjudicar la secreción de insulina de las células beta. El modelo sugiere nuevos enfoques terapéuticos de la DMT2 y sus complicaciones, como la atenuación de la inflamación mediante la modulación de citoquinas pro-inflamatorias e inhibiendo la proliferación de células T (21).

## **DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE LA DMT2.**

En forma general la diabetes mellitus (DM) pertenece a un grupo de enfermedades metabólicas, causada por alteración en la función endocrina del páncreas o por la alteración en los tejidos efectores, que pierden su sensibilidad a la insulina (22).

Los nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación de la DM que se presentan en las tablas 1 y 2 fueron desarrollados casi simultáneamente por un comité de expertos de la

Asociación Americana de Diabetes (ADA) y por un comité asesor de la OMS. La clasificación de la DM se basa fundamentalmente en su etiología y en sus características fisiopatológicas, pero adicionalmente incluye la posibilidad de describir la etapa de la historia natural en la cual se encuentra la persona (8).

**Tabla 1. Clasificación de la Diabetes Mellitus**

TIPO	CARACTERISTICA
Diabetes tipo 1	
DM de tipo 1A	Destrucción autoinmune de las células $\beta$ .
DM de tipo 1B	Carecen de inmunomarcadores indicadores de un proceso autoinmune destructivo de las células $\beta$ pancreáticas. La categoría 1B idiopática.
Diabetes tipo 2	
DM tipo 2	Defecto secretor de insulina predominante con resistencia a la insulina.
Diabetes del adulto de inicio juvenil	
MODY 1	Mutación en gen del factor nuclear de hepatocitos 4 $\alpha$ (HNF-4 $\alpha$ ).
MODY 2	Mutación en el gen de glucocinasa.
MODY 3	Mutación en gen del factor nuclear de hepatocitos 1 $\alpha$ (TCF-1).
MODY 4	Mutación en el gen del factor promotor insulínico 1 (IPF1).
MODY 5	Mutación en el gen del factor nuclear de hepatocitos 1 $\beta$ (HNF-1 $\beta$ ).
MODY 6	Mutación en el gen de diferenciación neurógena (NEUROD1).
MODY X	Mutación en el gen de RNAt de leucina mitocondrial. Mutaciones en el gen de la insulina. Mutaciones en el gen del receptor.
Tipos de diabetes secundarias a circunstancias o patologías primarias	
Diabetes por pancreatopatía	Pancreatitis crónica Quirúrgicas Diabetes Tropical
Diabetes como consecuencia de endocrinopatías	Enfermedad de Cushing Acromegalia Diabetes gestacional

Tomado de: Classification and diagnosis of diabetes, ADA (23).

En cuanto a los criterios diagnósticos, estos fueron recientemente actualizados y estandarizados por la ADA; así entonces la DM2 puede ser diagnosticada con base en criterios de hemoglobina glucosilada o criterios de glucosa en plasma, en este último caso glucosa plasmática en ayuno o la medición de la misma dos horas posterior a una carga oral de 75 gramos de glucosa conocida como prueba de tolerancia a la glucosa. Las mismas pruebas se utilizan tanto para el tamizaje como para diagnosticar diabetes. La diabetes es un padecimiento que puede ser identificado en cualquier momento a lo largo del espectro de escenarios clínicos, ya sea en individuos quienes cumplen con bajo riesgo

y son candidatos a la prueba de tolerancia a la glucosa; en pacientes sintomáticos, y en individuos de alto riesgo e incluso en aquellos categorizados como prediabéticos; sus ventajas y desventajas se presentan en la tabla 2 (24).

**Tabla 2. Criterios Diagnósticos de Diabetes Mellitus.**

Puntos de corte para diagnóstico.	Glucosa plasmática	Prueba de tolerancia a la glucosa	Hemoglobina glucosilada
Prediabetes	110-125	140-199	5.7-6.4
Diabetes	≥126	≥200	≥6.5
Evaluar métodos			
Ventaja	Fácil, la medición es de bajo costo.	Al ser una prueba de estrés metabólico, puede ser más sensible.	Mejor medida de la glucemia crónica, más estrechamente asociado con el riesgo de complicaciones y una menor variabilidad biológica que las pruebas a base de glucosa; necesaria para el manejo inicial de la diabetes.
Desventaja	Relativamente insensible, fluctúa, se ve afectado por el estrés, y requiere ayuno nocturno.	Incómoda, consume tiempo, y costoso.	Más caro que la glucosa en ayunas, tal vez menos sensible que la prueba de tolerancia oral a la glucosa, y no se puede realizar en hemoglobinopatías

Tomado de: Diabetes: Advances in Diagnosis and Treatment (22).

## HOMEOSTATIC MODEL ASSESSMENT (HOMA) Y DIAGNÓSTICO INTEGRAL EN PACIENTES CON DMT2

Para lograr una valoración objetiva del estado basal integral de los pacientes con DMT2 se han diseñado numerosas estrategias para calcular la resistencia periférica a la insulina y la funcionalidad de las células beta con el menor costo, que sea altamente reproducible y con el menor valor de sesgo; a continuación se presenta el mejor ejemplo de ello (8).

El HOMA, es un modelo matemático ampliamente utilizado en numerosos estudios, fue descrito por primera vez en 1985 por Matthews y colaboradores; el cual tiene por objetivo analizar los diferentes elementos que intervienen en la homeostasis de la glucosa y que también influyen en la secreción de insulina. El HOMA tiene una ventaja adicional, ya que, además de la resistencia a la insulina (HOMA-IR), permite valorar la funcionalidad de la célula beta (HOMA-B). El cálculo está basado en la relación entre la glucemia basal y las

concentraciones de insulina, esto por las formulas  $HOMA - IR = \text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glucosa (mg/dL)} / 405$  y para  $HOMA - B = \text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times 360 / (\text{glucosa (mg/dL)} - 63)$  , evaluando el balance entre la producción hepática de glucosa y la secreción de insulina (25).

El índice HOMA es un procedimiento simple, poco invasivo, y que permite mediante una fórmula validada y bien establecida, precisar un valor numérico expresivo de resistencia a insulina (26).

El modelo toma como estándar una función celular beta del 100% y una resistencia a la insulina normal de 1; por otra parte el San Antonio Heart Study el cual valoró pacientes mexicanos y blancos no hispanos normoglicemicos y con IMC menor a 30 encontrando como punto de corte 2.6 para HOMA IR y el percentil 75 o 30 % para HOMA B (27)(39).

## **VITAMINA D Y SU PROTEÍNA DE UNIÓN.**

La vitamina D o calciferol es el nombre genérico para un grupo de esteroides, los cuales son vitamina D2 (ergocalciferol) y la vitamina D3 (colecalciferol). Ambos tipos comparten el mismo metabolismo, sin embargo, la primera se deriva de fuentes dietéticas y la segunda se obtiene mediante la irradiación solar de la piel; esta vitamina resulta peculiar al tener características similares a las de una hormona y algunas cualidades inmunorreguladoras (28).

Sin importar el primer mecanismo de adquisición, es decir cutánea o dietética, los metabolitos deben realizar metabolismo en dos pasos uno hepático y otro renal para convertirse en la forma bioactiva.

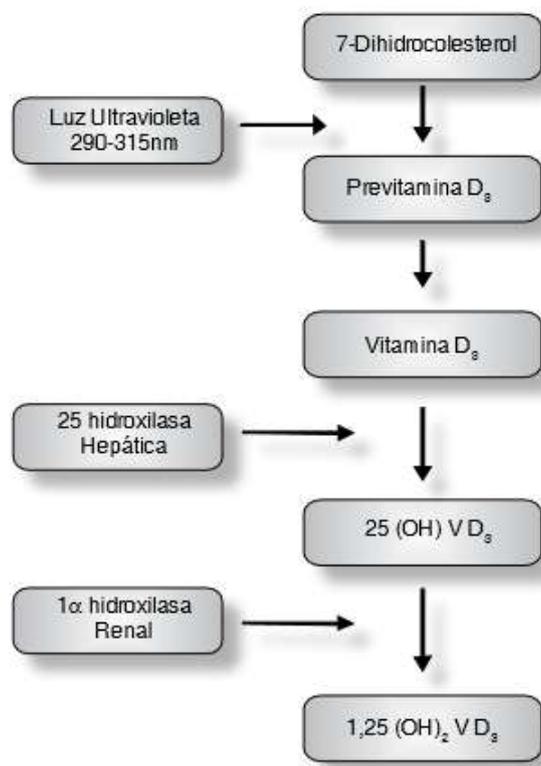
La vitamina D3 se transporta al hígado donde se somete a la hidroxilación por la enzima 25-hidroxilasa expresada por el citocromo P450 (CYP) de la familia isoforma 2, subfamilia R, polipéptido 1 (CYP2R1), lo que resulta en la formación de 25-hidroxivitamina D (25 (OH) D<sub>3</sub>); esta tiene una vida media larga de entre 10 y 21 días y es también uno de los principales metabolitos circulantes, que se utiliza para medir el estado de vitamina D en los seres humanos (29).

Una vez formada, la vitamina D<sub>3</sub>, estructuralmente incompatible con las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos de la membrana plasmática, es expulsada hacia el espacio extracelular y se une a una globulina  $\alpha$ -2 específica de grupo (Gc) sintetizada en el hígado, conocida como proteína de unión a vitamina D o transcalferrina.

Enlazada a la proteína de unión a vitamina D, la vitamina D<sub>3</sub> es transportada al hígado (y también a otros tejidos), para sufrir, como se explicó previamente, su primera hidroxilación dando como resultado la principal forma circulante de la vitamina D<sub>3</sub>, la 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25-OHD<sub>3</sub>) o calcidiol; representa además una estimación útil para la medición sérica de Vitamina D a unirse a ella con alta afinidad; esperándose así una media 248 µg/mL de DPB relacionada con un nivel óptimo de vitamina D esto es 30 ng/mL (30) (31).

Esta proteína de unión se expresa principalmente en los hepatocitos y en menor medida en el riñón por lo que se ha demostrado una disminución de DPB en pacientes con falla hepática o enfermedad renal. La DPB libera vitamina D en las células del hepatocito y en menor medida a otras células que así lo requieran mediante endocitosis mediada por megalina (32).

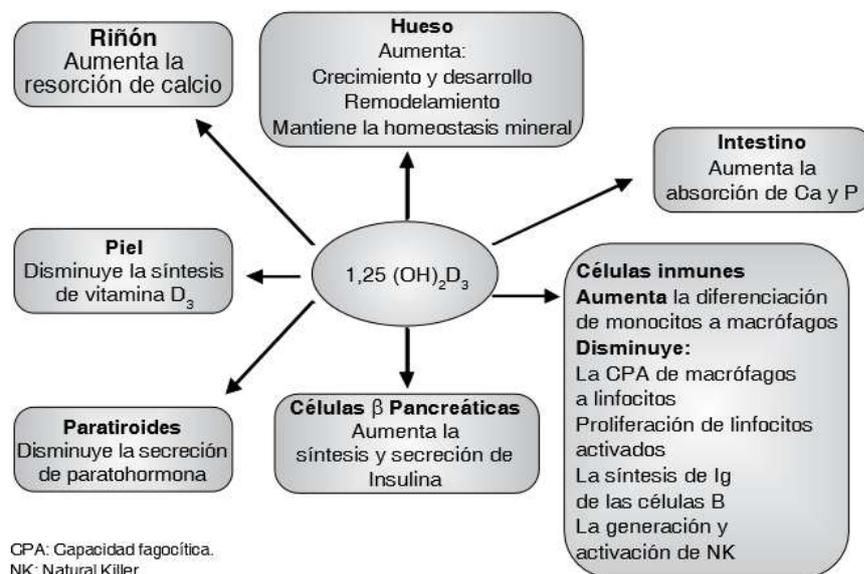
El segundo paso en el metabolismo, es principalmente en los riñones, en el que la 1 $\alpha$ -hidroxilación se produce y es estimulada por el calcio y fósforo, teniendo como hormona reguladora, a la hormona paratiroidea (PTH). Se genera entonces el metabolito más activo, 1,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub> (1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>) (ver figura 3) (33).



**Figura 3.** Síntesis de Vitamina D. De forma fisiológica la vitamina D independientemente de su origen alcanza un mismo proceso a partir de la previtamina D<sub>3</sub>; este proceso tiene dos pasos críticos con sus enzimas limitantes; el primero hepático mediante la 25 hidroxilasa hepática para obtener el metabolito con mayor vida media y de forma secundaria a nivel renal por la 1 $\alpha$  - hidroxilasa para formar su metabolito activo (32).

En lo que respecta a su mecanismo de acción, la vitamina D actúa de dos formas:

1. Acción genómica: mediante su receptor (VDR) que es un miembro de la superfamilia de los receptores nucleares de hormonas esteroideas, y puede ser categorizado como factor de transcripción activado por ligando. También se cree que desempeña un papel importante en generar la acción rápida de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ .
2. Acción no genómica: esta actividad esta mediada por receptores de superficie conocidos como  $1,25\text{D}_3\text{ MARSS}$  (proteínas de membrana de unión de respuesta rápida asociado a esteroides) (34).



**Figura 4.** Actividad Biológica de la Vitamina. La vitamina D resulta un factor determinante en la homeostasis teniendo funciones no solo intrínsecas si no participaciones extrínsecas. (32).

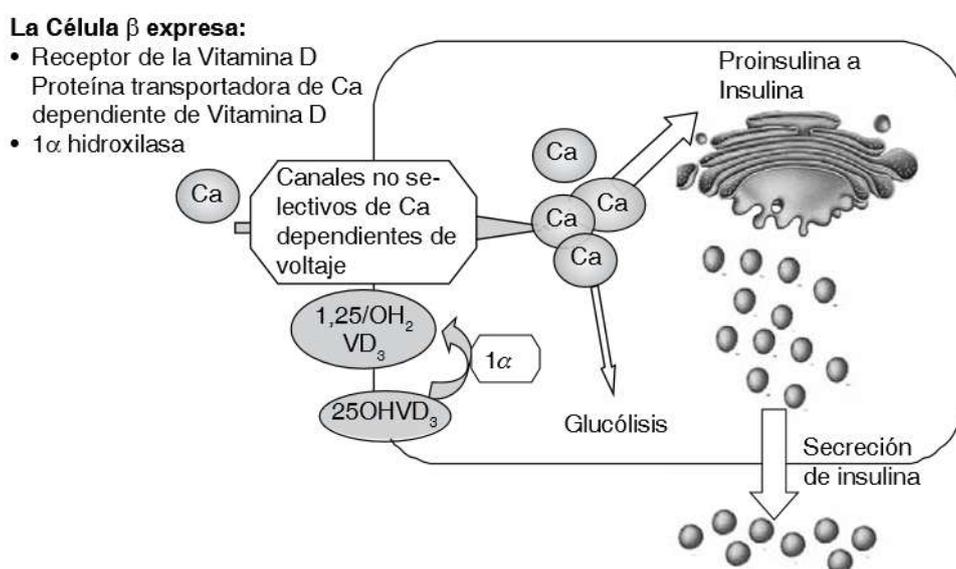
Los principales efectos biológicos de la vitamina D están relacionados con la homeostasis del calcio y fósforo y en la regulación de la remodelación ósea; sin embargo no son los únicos blancos que tiene, también actúa sobre corazón, estomago, tiroides, islotes pancreáticos y células inmunológicas, en estas últimas disminuyendo la expresión de citocinas proinflamatorias como  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-6 e IL-8. De esta forma la vitamina D modula el proceso inflamatorio y mejora la supervivencia de las células pancreáticas; convirtiéndose en un factor de interés en la patogénesis de la DMT2 (ver figura 4) (32).

## RELACIÓN DE LA VITAMINA D COMO ADYUVANTE EN LA PATOGENESIS DE DM TIPO 2.

La vitamina D tiene efectos directos e indirectos tanto en la secreción de la insulina como en su sensibilidad.

De forma general la vitamina D ha demostrado aumentar la activación y expresión transcripcional del gen del receptor de insulina, lo que facilita la oxidación de la glucosa y mejora los resultados en la sensibilidad a la insulina. La vitamina D también mejora su acción y la transducción de señales mediante la regulación extracelular de calcio. Además la vitamina D ha sido implicada en la modulación de citocinas, mediando así la apoptosis de las células beta, el factor más importante en el desarrollo y la progresión de la DM2 (35).

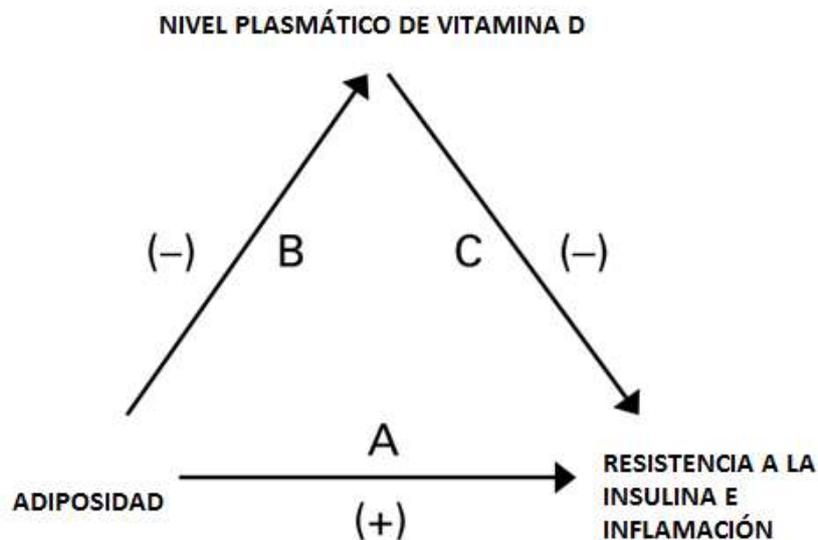
El tejido pancreático, en especial las células  $\beta$ , expresa la enzima  $1\alpha$  – hidroxilasa, el receptor de vitamina D y proteínas de unión de calcio dependientes de vitamina D; lo cual fortalece su participación en la secreción de insulina. También,  $1,25$  - (OH)  $2D$  es capaz de activar la transcripción del gen de la insulina humana y, por tanto desempeñar un papel esencial en la secreción de insulina (ver figura 5) (36).



**Figura 5.** Vitamina D y producción de Insulina. La actividad intrínseca de la vitamina D sobre la célula beta se logra mediante los canales no selectivos de Ca dependientes de voltaje los cuales aumentan la conversión de proinsulina en insulina y su secreción; además la célula expresa  $1\alpha$  – hidroxilasa enzima encargada de generar el metabolito activo de la vitamina D (32).

La participación de la vitamina D en la secreción de insulina se deriva del aumento en la concentración de calcio intracelular mediante los canales no selectivos de calcio dependientes de voltaje, facilitando la conversión de proinsulina en insulina, ya que permite el anclaje de endopeptidasas calciodependientes de la célula  $\beta$  (37).

Lo antes mencionado refiere solo la actividad intrínseca de la Vitamina D; pero las concentraciones plasmáticas de la misma están relacionadas con otros mecanismos tales como la adiposidad y la resistencia periférica a la insulina que integran el complejo patológico de DMT2; esto es, si existe una adecuada concentración de vitamina D plasmática, habrá una disminución significativa de la adiposidad y de forma paralela menor resistencia a la insulina; recordando también que la vitamina D tiene efecto antiinflamatorio con sus acciones inmunomoduladoras, mediante la inhibición en la producción de citocinas pro-inflamatorias que incidirá sobre la inflamación crónica y de bajo grado propia de la DMT2 (ver figura 6). Se infiere que existe entonces una asociación inversa entre las concentraciones de vitamina D y la resistencia a la insulina, inflamación y el exceso de tejido adiposo (38).



**Figura 6.** Interrelación entre adiposidad, resistencia a la insulina y el nivel plasmático de Vitamina D. La línea A demuestra que a mayor adiposidad mayor lipotoxicidad y por ende mayor resistencia a la insulina e inflamación; por otro lado las líneas B y C representan la relación inversa entre las concentraciones séricas de Vitamina D y ambos factores citotóxicos sobre las células beta (14).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) es una de las enfermedades crónico - degenerativas con mayor impacto epidemiológico del siglo; con un comportamiento que la categoriza ya como pandemia y que provoca grandes gastos de salud pública, no solo por la evolución paulatina de la enfermedad, sino por los que se generan por las complicaciones que desarrollan los pacientes.

Es por ello que resulta de suma importancia el conocimiento de la fisiopatogenia de esta enfermedad con el propósito de lograr un mejor control metabólico y evitar así la aparición prematura de complicaciones micro y macro vasculares que caracterizan a la DMT2.

Partiendo de esa premisa, es entonces que se debe comprender a la DMT2 como una enfermedad que desencadena procesos de inflamación crónica de bajo grado en donde los mediadores y productos intermedios de la misma, resultan tóxicos para la célula diana -las células  $\beta$  pancreáticas- las cuales por mecanismos de muerte celular programada disminuirán su masa neta funcional.

En este sentido, es de suma importancia conocer de forma cuantitativa la resistencia a la insulina de los tejidos periféricos así como la actividad intrínseca de las células beta; se han propuesto numerosos métodos muy complejos, costosos y poco reproducibles, sin embargo se concluye que la forma menos invasiva y más sencilla de conocer estos resultados es mediante el índice HOMA, el cual es capaz de valorar ambos parámetros; para lograr así no solo el diagnóstico y clasificación que varias asociaciones han publicado y modificado en los últimos años, sino también para lograr el diagnóstico basal de la reserva y funcionalidad pancreática.

Por otra parte, desde el siglo pasado algunas publicaciones hacen referencia al papel de la Vitamina D y su influencia en la patogenia de DMT2; pues de forma intrínseca incrementa la secreción de insulina en las células beta y de forma extrínseca aumenta la sensibilidad periférica de la insulina por los tejidos efectores.

Además son, la vitamina D y sus precursores, factores de atenuación de la respuesta inflamatoria, especialmente en el tejido adiposo, siendo determinante para su biodisponibilidad la cantidad de proteína de unión disponible; por lo que es importante evaluar si existe alguna relación entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D, la funcionalidad de las células  $\beta$  pancreáticas y la resistencia a la insulina.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la relación entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D y el índice HOMA IR Y HOMA B en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 con normopeso y con sobrepeso del Estado de México?

#### **4. HIPÓTESIS**

A mayor concentración sérica de proteína de unión a vitamina D se encontrará menor resistencia a la insulina y mejor funcionalidad de las células  $\beta$  pancreáticas en pacientes Diabetes Mellitus tipo 2 con normopeso y con sobrepeso.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **6.1 Objetivo general**

Investigar la relación existente entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D, resistencia a la insulina y la función de las células  $\beta$  pancreáticas en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 con normopeso y con sobrepeso, en población del Estado de México.

##### **6.2 Objetivos particulares**

1. Determinar la concentración sérica de insulina y glucosa en la población con Diabetes Mellitus tipo 2 con normopeso y con sobrepeso.
2. Cuantificar la concentración sérica de proteína de unión a vitamina D en población con Diabetes Mellitus tipo 2.
3. Describir la relación entre la concentración sérica de proteína de unión a vitamina D e insulina en ambos grupos de estudio.
4. Identificar la relación existente entre la concentración sérica de proteína de unión a vitamina D y los índices HOMA-IR y HOMA-B en pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 con y sin sobrepeso.

## 6. JUSTIFICACIÓN

La DMT2 ocupa los primeros lugares en morbilidad en México, es uno de los motivos más frecuentes de atención en los servicios de consulta externa y una de las principales causas de hospitalización, todo ello la convierte en una patología sumamente investigada.

Como es conocido, la proteína de unión a vitamina D se une con alta afinidad al precursor con mayor vida media de la vitamina D y la hace entonces un factor medible, pues representa con mucha exactitud la concentración de dicha vitamina en la circulación sistémica; por otra parte en lo que respecta a la función de las células beta, es posible de analizarse mediante el Índice HOMA, que cuantifica no solo la reserva pancreática sino también la funcionalidad de las células pancreáticas.

El propósito del estudio es contribuir en las bases del conocimiento médico de una de las enfermedades crónico - degenerativas que más aquejan a la población; esto permitirá mejorar el manejo y la toma de decisiones en el tratamiento de los pacientes, pero también contribuir a largo plazo en su pronóstico; retrasando la aparición de complicaciones que generen disminución en la calidad de vida de los mismos, así como un alto dispendio del gasto público.

Es preciso señalar que el proyecto de investigación propuesto deriva de un macroproyecto que contempla variables de inflamación y; el objeto del presente se centra en el estudio de la participación de la Vitamina D en la fisiopatogenia de la Diabetes Mellitus tipo 2. El desarrollo del mismo permitirá identificar si existe alguna asociación entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D y la funcionalidad de las células  $\beta$  del páncreas; es decir, a una mayor cantidad de proteína transportadora que refleje un aumento en la cantidad de Vitamina D, existirá una célula beta funcional y viceversa, los resultados obtenidos, permitirían coadyuvar en las estrategias terapéuticas empleadas hoy en día.

## **8. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **8.1. Diseño de Estudio**

#### **Tipo de Estudio**

Observacional, descriptivo y transversal.

#### **Tamaño de Muestra**

Muestra por conveniencia, conformada por 100 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 residentes en el Estado de México de los cuales 50 pacientes tuvieron normopeso y 50 sobrepeso.

#### **Criterios de inclusión**

- Edad entre 25 y 60 años.
- IMC < 30.
- Que no presentaron otra patología crónica concomitante a la Diabetes como obesidad, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica o insuficiencia renal.
- Pacientes que no tuvieron tratamiento con insulina.

#### **Criterios de exclusión**

- Mujeres que se encontraron embarazadas o en periodo de lactancia.

#### **Criterios de eliminación**

- Que no completaron todas las evaluaciones.
- Que no se presentaron a la toma de muestra sanguínea.

## **8.2. Procedimientos**

### **8.2.1. Selección de Sujetos**

Se acudió a la Coordinación de Enseñanza e Investigación del Instituto de Salud del Estado de México ISEM en donde se presentó el presente protocolo de investigación para su revisión, aprobación y asignación de dos centros de salud urbanos donde se obtuvo la muestra para este estudio.

Una vez obtenidas las autorizaciones pertinentes, se acudió a los centros de salud y se estableció contacto con los directores de la unidad, donde se explicó la naturaleza del estudio y se le solicitó su apoyo para la realización del trabajo de campo con la población adscrita a dichas unidades de salud.

Se impartieron también pláticas durante los turnos de atención (matutino y vespertino), para informar al personal médico, paramédico y en especial a los pacientes sobre el programa y poder obtener el apoyo por parte de estos últimos.

La participación fue voluntaria, los pacientes interesados en participar en el proyecto, firmaron la carta de consentimiento bajo información (Anexo 1).

Se recabaron los datos personales (nombre, dirección particular, teléfono casa, celular y en su caso correo electrónico) de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión con el fin de elaborar un directorio que facilito el contacto con los participantes durante la implementación del proyecto.

### **8.2.2. Evaluación**

Se acudió a los centros de salud asignados donde se realizaron las evaluaciones dietética, antropométrica y bioquímica a todos los pacientes participantes.

### **8.2.3. Historia Clínica**

Un médico calificado se encargó de realizar la Historia Clínica completa de todos los participantes (Anexo 2).

### **8.2.4. Toma de muestra sanguínea**

Se solicitó a los participantes ayuno de 12 horas, se procedió a la recolección de una muestra de sangre venosa en un tubo para suero con gel y activador de coagulación de 8.5 mL, guardando las medidas de bioseguridad recomendadas, y de acuerdo a las técnicas descritas en el anexo 3.

Una vez obtenida la muestra, se dejó que la sangre coagule al menos 30 minutos (pero no más de 60 minutos) antes de comenzar la centrifugación por 10 minutos a 900 G, inmediatamente después se alicuotó el suero en 3 viales de 1000 µl y 4 viales de 100 µl cada uno, se congeló a -70°C y se almaceno para su posterior análisis.

#### **8.2.5. Evaluación bioquímica**

En el suero obtenido se midió las concentraciones de glucosa mediante el método colorimétrico ultrasensible del equipo Selectra II y con reactivos de la casa comercial RANDOX™ (Cat. GL1611).

#### **8.2.6. Determinación de insulina**

Se realizó la determinación de insulina sérica mediante técnica de ELISA con un kit comercial de la casa Merck-Millipore (No. Cat. **EZHI-14K**) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (anexo 4).

#### **8.2.7. Cálculo del índice HOMA-IR y HOMA-B**

Se determinó el índice HOMA-IR y HOMA-B a los sujetos de estudio, mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{HOMA}_{\text{IR}} = (\text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glucosa (mg/dL)})/405$$

La fórmula empleada para determinar el índice HOMA-B se describe a continuación:

$$\text{HOMA-B} = \text{Insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times 360 / (\text{glucosa (mg/dL)} - 63)$$

#### **8.2.8. Cuantificación de Proteína de unión a Vitamina D**

Se realizó la determinación de Proteína de unión a Vitamina D sérica mediante técnica de ELISA con un kit comercial de la casa R&D Systems (No. Cat. **DVDPB0**) de acuerdo a las instrucciones del fabricante (anexo 5).

### **8.3. Variables de Estudio**

#### **8.3.1. Variables Independientes**

Sexo, edad, evolución, concentraciones séricas de proteína de unión a Vitamina D.

#### **8.3.2. Variables Dependientes**

Insulina, HOMA-IR, HOMA-B, glucosa.

#### 8.4. Operacionalización de las variables

<b>Variables</b>					
<b>NOMBRE</b>	<b>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICIÓN OPERACIONAL</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>	<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>
<b>INDEPENDIENTES</b>					
Sexo	Categoría que sirve para indicar la diferencia de sexo entre las personas.	Características fenotípicas de hombre Características fenotípicas de mujer	Cualitativa Nominal	Masculino Femenino	Frecuencia y porcentaje
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio	Fecha de nacimiento hasta la fecha de medición	Cuantitativa Continua	Años cumplidos	Media y desviación estándar
Evolución	Período en que se manifiesta clínicamente la enfermedad, y el afectado demanda ayuda sanitaria	Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad a la fecha.	Cuantitativa Continua	Años	Media y desviación estándar
Proteína de unión a vitamina D	Proteína $\alpha$ -2 globulina específica de grupo (Gc) sintetizada en el hígado, encargada del transporte de la vitamina D y sus metabolitos en el plasma.	Globulina con unión de alta afinidad para el calcidiol y la cual refleja el nivel periférico de vitamina D.	Cuantitativa Continua	Continua Instrumento de medición: ELISA con un kit comercial de la casa R&D Systems (No. Cat. <b>DVDPB0</b> ) Unidad de medida: mg/dl	Media y desviación estándar
<b>DEPENDIENTES</b>					

Insulina	Hormona poli - peptídica formada por 51 aminoácidos sintetizada y secretada por las células beta pancreáticas; hormona que media el aprovechamiento metabólico de los carbohidratos	Cantidad de insulina; medible en suero median Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima ELISA.	Cuantitativa Continúa	Continúa Instrumento de medición: ELISA con un kit comercial de la casa Merck-Millipore (No. Cat. <b>EZHI-14K</b> ) Unidad de medida: mg/dl	Media y desviación estándar
HOMA IR	Modelo homeostático que permite la cuantificación de resistencia a la insulina periférica.	$HOMA_{IR} = (\text{insulina (UI/mL)} \times \text{glucosa (mg/dL)}) / 405$	Cuantitativa Continúa	Continúa	Media y desviación estándar
HOMA B	Modelo homeostático que permite la determinación cuantitativa de la reserva funcional pancreática.	$HOMA-B = \text{Insulina (UI/mL)} \times 360 / (\text{glucosa (mg/dL)} - 63)$	Cuantitativa Continúa	Continúa	Media y desviación estándar

## **8.5. Recolección de Datos**

La información obtenida fue capturada por personal capacitado y con amplio conocimiento del expediente clínico-nutricional; posteriormente, esta información y los resultados de los análisis bioquímicos, fueron vertidos a una base de datos para ser analizados en el programa de análisis estadístico.

## **8.6. Análisis Estadístico**

Los resultados de la muestra de estudio se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22.0.

Los datos paramétricos han sido descritos con medias y desviaciones estándar, mientras que los datos no paramétricos con frecuencia, porcentajes y U de Mann Whitney considerando significativos los valores de  $p < 0.05$ .

Se realizaron correlaciones de Spearman, considerándose significativos los coeficientes de relación de las variables independientes con un valor de  $p < 0.05$ .

## **8.7. Implicaciones Bioéticas**

Esta investigación se llevó a cabo respetando los lineamientos establecidos por la Declaración de Helsinki de 1975 y la enmienda del año 2012. De la misma manera, se respetó el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación en Seres Humanos.

El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Ética e Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México.

La participación fue voluntaria y estuvo siempre sujeta a la autorización del paciente mediante el consentimiento informado declarado de forma escrita.

Este estudio se considera como una investigación con riesgo mayor al mínimo, en virtud de que se obtuvieron muestras de sangre por punción venosa.

La información obtenida de este estudio ha sido manejada en forma confidencial.

## **8.8. Presupuesto y Financiamiento**

Este protocolo de investigación deriva de un macro proyecto financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Proyecto registrado, D.I./2589/2014.

Registro por Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados de la UAEMex: Clave 212946.

## **8.9. Infraestructura y disponibilidad**

El proyecto de investigación se realizó con el apoyo de la infraestructura de la Facultad de Medicina y Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Ciencias de la Salud (CIEACS) de la Universidad Autónoma del Estado de México. Así mismo se contó con el Laboratorio de Investigación en Nutrición cuyo equipamiento es suficiente para la realización del procesamiento de las muestras.

## 9. RESULTADOS

El presente estudio transversal se constituyó por una muestra de 100 pacientes con diagnóstico de DMT2 residentes del Estado de México y con seguimiento médico en unidades de salud de primer nivel de atención pertenecientes a la Jurisdicción Sanitaria Toluca. Dicha muestra fue subdividida en dos grupos uno con normopeso (DMT2 NP) y otro con sobrepeso (DMT2 SP) según la clasificación de la OMS.

Respecto al sexo en el grupo con DMT2 NP 36 fueron mujeres y 14 hombres, mientras que en DMT2 SP 12 fueron hombres y 38 mujeres.

Tomado de la historia clínica en lo referente a la ocupación de los pacientes, el 50% de pacientes con DMT2 NP y 60% de los clasificados como DMT2 SP se dedica al hogar (ver tabla de resultados 1).

En relación a la escolaridad la más frecuente fue secundaria completa con 18 pacientes en el grupo DMT2 NP y 11 pacientes para el grupo DMT2 SP; seguida de primaria incompleta con 7 en DMT2 NP y 13 pacientes en el grupo DMT2 SP.

Por otra parte; se evaluó también el tiempo de evolución de los pacientes donde se observó una media general 6.6 años de evolución con DMT2; se analizó por cada grupo de estudio encontrándose una media de  $7.7 \pm 6.5$  años para los pacientes con DMT2 NP; mientras que la media calculada para el grupo DMT2 SP fue de  $5.3 \pm 4.7$  años.

La media de edad del grupo DMT2 NP fue de  $49.8 \pm 7.3$  y de  $47.6 \pm 7.7$  años para los de DMT2 SP; en relación a la edad no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

En relación al IMC, se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. DMT2 NP  $23.05 \pm 1.51$  vs  $27.04 \pm 1.31$  en el grupo DMT2 SP ( $p = 0.001$ ).

En cuanto a la tensión arterial, se obtuvo una media de Tensión Arterial Sistólica (TAS) de  $106.8 \pm 12$  mmHg en el grupo DMT2 NP y de  $110 \pm 10.8$  mmHg el grupo

DMT2 SP; mientras que la media de Tensión Arterial Diastólica (TAD) fue de  $68.6 \pm 8.6$  mmHg para los pacientes del grupo DMT2 NP y de  $71.1 \pm 8.7$  mmHg registrada para los pacientes del grupo DMT2 SP. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos (la tabla de resultados 2 resume las características de la población estudiada).

En relación a la concentración sérica de glucosa, la media obtenida en el grupo DMT2 NP fue de  $195.8$  mg/dL  $\pm 71.2$ , mientras que en el grupo DMT2 SP fue de  $168.4$  mg/dL  $\pm 50.9$ ; se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p = 0.038$ ).

En lo referente a la determinación de insulina sérica, se encontró una media de  $6.88$   $\mu$ UI/mL  $\pm 2.29$  para el grupo DMT2 NP; mientras que en DMT2 SP tuvo una media de  $7.36$   $\mu$ UI/mL  $\pm 3.1$ , sin diferencias estadísticas entre ambos grupos.

Otro de los motivos de interés del presente trabajo fue realizar la determinación de la proteína de unión a vitamina D; se observó una media de  $355.75 \pm 190.88$   $\mu$ g/mL y un rango de cuantificación entre  $102.39$   $\mu$ g/mL y  $927.03$   $\mu$ g/mL en el grupo DMT2 NP. Por otro lado en el grupo DMT2 SP se obtuvo una media de  $321.03 \pm 159.12$   $\mu$ g/mL y un rango de determinación de  $103.45$  a  $956.56$   $\mu$ g/mL, no se encontraron diferencias en los grupos observados.

Se realizó además el cálculo del índice HOMA-B; se obtuvo para el grupo DMT2 NP una media  $31.65 \pm 47.6$  %; y para el grupo DMT2 SP de  $31.08 \pm 19.7$ %, encontrando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p = 0.031$ ).

En lo que respecta al índice HOMA – IR, del grupo DMT2 NP presentó una media de  $3.41 \pm 1.9$  mientras que para los pacientes del grupo DMT2 SP la media calculada fue de  $3.08 \pm 1.65$ , no se encontraron diferencias entre los grupos. La tabla de resultados 3 muestra los datos de la evaluación bioquímica.

Se llevó a cabo una correlación de Spearman para evaluar la asociación de la concentración de proteína de unión a vitamina D e insulina, el índice HOMA – IR y

el HOMA – B, en los dos grupos de pacientes, no se encontraron correlaciones significativas.

Se realizó un análisis secundario, donde se reagrupó la muestra de acuerdo al rango de la concentración sérica de proteína de unión a vitamina D; estableciéndose un primer grupo DBP1, conformado por pacientes con concentraciones entre 102.39  $\mu\text{g/mL}$  y 306.44  $\mu\text{g/mL}$  y con una media de  $206.92 \pm 58.9 \mu\text{g/mL}$ . El segundo grupo DBP2, incluyó pacientes con concentraciones de 307.15  $\mu\text{g/mL}$  a 956.56  $\mu\text{g/mL}$  con una media de  $469.86 \pm 153.7 \mu\text{g/mL}$ . Tomando en cuenta esta reclasificación de los grupos de estudio, se realizaron correlaciones con los índices HOMA-IR y HOMA-B sin encontrar coeficientes de las variables independientes significativos (ver tabla de resultados 4).

## 9.1 TABLAS DE RESULTADOS

**Tabla de Resultados 1. Datos sociodemográficos**

	DM2 NP	DM2 SP
<i>Sexo</i>		
Femenino	36	38
Masculino	14	12
<i>Escolaridad</i>		
Analfabeta	4	2
Alfabeta	3	2
Primaria incompleta	7	13
Primaria completa	8	6
Secundaria incompleta	2	11
Secundaria completa	18	11
Técnica	0	2
Preparatoria inconclusa	0	1
Preparatoria completa	5	1
Licenciatura	3	1
<i>Ocupación</i>		
Hogar	25	30
Comerciante	6	5
Empleado	9	8
Trabajador sector salud	1	0
Empleada Domestica	1	0
Campesino	1	1
Artesano	1	2
Desempleado	1	1
Otro	2	1
Albañil	2	1
Operador	1	1

Los valores representan las frecuencias estudiadas para cada grupo con n= 50. DM2 NP (grupo normo peso), DM SP (sobrepeso).

## Tabla de Resultados 2. Características de la población estudiada

	DM2 NP	DM2 SP	p
Edad (años)	49.8 ± 7.3	47.6 ± 7.7	0.110
IMC	23.05 ± 1.51	27.04 ± 1.31	0.001
TA Sistólica (mmHg)	106.8 ± 12	110 ± 10.8	0.190
TA Diastólica (mmHg)	68.6 ± 8.6	71.1 ± 8.7	0.160

Los valores representan la media ± DE, cada grupo con n= 50. DM2 NP (grupo normo peso), DM SP (sobrepeso), IMC (Índice de Masa Corporal), TA (tensión arterial). Se realizó análisis U de Mann Whitney con una p =< 0.05.

## Tabla de resultados 3. Análisis y evaluación bioquímica

	DM2 NP	DM2 SP	p
Glucosa Plasmática (mg/dL)	195.85 ± 71.2	168.49 ± 50.9	0.038
Insulina (μUI/mL)	6.8 ± 2.29	7.36 ± 3.10	0.817
HOMA IR	3.41 ± 1.97	3.08 ± 1.65	0.093
HOMA B (%)	31.65 ± 47.6	31.08 ± 19.70	0.031
Proteína de Unión (μg/mL)	355.75 ± 190.88	321.03 ± 159.12	0.459

Los valores representan la media ± DE, cada grupo con n= 50. DM2 NP (grupo normo peso), DM SP (sobrepeso). Se realizó análisis U de Mann Whitney con una p =< 0.05.

**Tabla de resultados 4. Correlación Proteína de Unión a vitamina D, HOMA IR y HOMA B.**

	DBP1	p	DBP2	p
HOMA IR	-0.010	0.994	-0.106	0.464
HOMA B (%)	-0.140	0.333	0.460	0.751

Los valores representan el coeficiente de correlación de Spearman para cada grupo con n= 50. DBP1 (grupo rango entre  $206.92 \pm 58.9 \mu\text{g/mL}$ ), DBP2 (grupo rango entre  $469.86 \pm 153.7 \mu\text{g/mL}$ ). Se considera significativa una  $p \leq 0.05$

## 10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Hoy en día y derivado de la gran incidencia de pacientes diagnosticados con DMT2 se han descrito una gran cantidad de vías fisiopatológicas de esta enfermedad, siempre en busca de una mejora en el control de esta patología; entre estas líneas de investigación ha surgido en las últimas décadas investigación científica formal que avalan el papel de la vitamina D dentro de sus efectos denominados no clásicos en la secreción de insulina.

Por otra parte, la hipovitaminosis D, se ha definido ya como epidemia, pues se presenta a nivel mundial estimándose que más del 20% de los adultos mayores de Estados Unidos, Canadá y Europa son vitamina D deficientes así como también gran parte de los adultos jóvenes de India, África y América del Sur. Este comportamiento no es distinto de lo que ocurre en nuestro país.

Esta deficiencia de vitamina D se ha asociado con factores de riesgo individuales asociados a la presencia de Síndrome Metabólico (SM) y a un riesgo aumentado de padecer DMT2 (40).

Existe suficiente bibliografía que respalda la asociación entre vitamina D y resistencia a la insulina y como factor en la fisiopatogenia de la DMT2; un meta-análisis realizado por Pittas y colaboradores que incluyo 19 estudios transversales, 13 estudios caso-controles y 12 estudios prospectivos en adultos; demostró que los niveles bajos de 25(OH) D o un bajo consumo de vitamina D se asoció a un mayor riesgo de padecer de DMT2 en diferentes poblaciones y grupos de edad, incluyendo los Hispanos (39).

De igual forma se ha demostrado la utilidad de la proteína de unión a vitamina D como biomarcador de Vitamina D tal y como lo describe Sonderman y colaboradores donde se demostró la alta afinidad y estabilidad de la proteína de unión con la 25 (OH) D que en la clínica se utiliza para cuantificar a la vitamina D (41).

El presente estudio pertenece a un macro proyecto; entre sus objetivos está el verificar si existe relación entre la concentración de proteína de unión a vitamina

D y los índices HOMA-B, HOMA-IR e insulina para la muestra de pacientes con DMT2 residentes del Estado de México y pertenecientes a la Jurisdicción Sanitaria Toluca.

Resultado de interés el conocer sobre la actividad diaria del paciente en nuestra muestra y para ambos grupos predomino aquellas dedicadas al hogar; resulta de importancia puesto que es un determinante en la evolución del padecimiento pues de su actividad económica depende la adquisición y el impacto del tratamiento así como las complicaciones de la DMT2.

En este estudio en cuanto a los niveles de glucosa plasmática encontramos las medias para ambos grupos por encima de la meta de control estipulada no solo en las guías mexicanas pautadas por la NOM-015-SSA2-2010 si no también en las guías internacionales de la ADA (24) (23), siendo aun mayor el descontrol en pacientes con DMT2 NP con una media de 195.8 mg/dl; lo que se traduce en un peor pronóstico para nuestros pacientes a largo plazo.

Se encontró de igual manera coeficiente de correlación muy significativa y lo esperado entre el nivel de insulina y el índice HOMA - IR del cual se ha tomado como punto de cohorte 2.6 (27), que comparado con la media de ambos grupos es decir 3.41 para los pacientes con DMT2 NP y 3.08 para los pacientes con DMT2 SP lo que traduce en nuestros pacientes un aumento en la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos; mientras que fue inversa con el índice HOMA - B es decir mientras menor cantidad de insulina exista entonces el porcentaje de células funcionales es decir reserva pancreática será menor, en nuestra muestra de pacientes reportamos medias para el índice HOMA-B mayores a 30% que es lo esperado en pacientes sanos y esto puede responderse puesto que los pacientes de nuestro estudio son pacientes con una media de tiempo de evolución no mayor a 10 años y por tanto existe aún reserva pancreática funcional, pues se ha descrito un ritmo de deterioro de 1.25 % anual (42).

Recientemente un estudio realizado por Camile E. Powe y colaboradores (43); cuyo propósito fue el medir proteína de unión a vitamina D como una forma de cuantificar vitamina D circulante y por tanto no biodisponible y encontrar su

relación con diferencias raciales es decir pacientes caucásicos y afroamericanos, ellos utilizaron la misma técnica para determinar la proteína que la realizada en el presente estudio (ELISA) y determinaron a sus pacientes afroamericanos con hipovitaminosis con una media como punto de cohorte de 168 µg/mL y mayor a 300 µg/mL en caucásicos esta diferencia racial secundaria a los polimorfismos sobre los genes asociados con la proteína de unión.

Otro estudio representativo en el que realizo por la misma técnica que este estudio la determinación de proteína de unión a vitamina D y el que además se realiza su asociación por cuartiles con la vitamina D circulante es el propuesto por Hou – Qun Y. y colaboradores donde el cuartil 1 representa valores menores a 168 µg/ml que define hipovitaminosis y el cuartil 4 mayor a 285 µg/mL (44).

Basados en los datos arriba descritos, de los pacientes incluidos en este estudio, solo el 14 % pueden ser catalogados con hipovitaminosis. Esto reafirma entonces, que la raza es un factor determinante en la concentración de vitamina D, sin minimizar el efecto de otros factores como el consumo o la exposición solar.

La proteína de unión a vitamina D es la principal proteína portadora de 25 - hidroxivitamina D (25 (OH) D) en la circulación, donde se puede servir papeles en el mantenimiento de niveles estables durante los tiempos de disminución de 25 (OH) la disponibilidad y en la prestación de regulación de 25 (OH) D a los tejidos diana. Varios polimorfismos genéticos de DBP se han descrito que conducen a cambios fenotípicos en la proteína que pueden afectar a la afinidad, la actividad, y la concentración. Estos polimorfismos se han relacionado con alteraciones en la densidad ósea en varias poblaciones y también en sus acciones no genómicas como la aquí estudiada (45).

Por otra parte Pedro M. Vidal y colaboradores (46) describen que no existe asociación en pacientes suizos entre las concentraciones de vitamina D la cual se cuantificó mediante la determinación de 25 (OH) D<sub>3</sub> y la resistencia a la insulina esta última variable al igual que la nuestra se determinó mediante el índice HOMA – IR con el mismo punto de cohorte que el presente trabajo (2.6). Dicho estudio revela que no existe asociación significativa pese al ajuste por IMC y que al

respecto juega un papel muy importante la adiposidad y la alteración secundaria sobre los receptores de insulina; también hace referencia al efecto que tiene la proteína de unión a vitamina D, modulando las concentraciones circulantes de 25 (OH) D<sub>3</sub>, lo que indirectamente indica el nivel de biodisponibilidad de la misma (44).

En cuanto a reportes locales; en un estudio previo realizado por el mismo grupo de investigación y que sirvió como referencia para el presente estudio donde se buscó la asociación entre el consumo de vitamina D y la función de las células beta mediante los índices HOMA y donde se concluyó que existía hipovitaminosis en la muestra de pacientes observada, que no existía asociación significativa con la concentración de insulina, pero si una correlación negativa entre el consumo de vitamina D y el índice HOMA B en pacientes con diabetes y sobrepeso (47); comportamiento contrario al presente estudio donde no se encontró asociación entre estas variables.

Es claro que existe asociación teórica entre la concentración sérica de vitamina D y la secreción de insulina y por ende ser un factor en el desarrollo de DMT2; sin embargo no se pierda de vista que esta es un enfermedad multifactorial, por lo que la participación de dicho factor de riesgo será expresado de acuerdo a la sensibilidad del paciente; como se mencionó previamente, esto depende de muchos factores como la etnia, el tiempo de evolución y los polimorfismos que existan en los genes ligados a vitamina D. Al respecto ha de considerarse la actual teoría sobre la patogenia de la enfermedad donde no solo se toma en cuenta la disfunción de las células beta sino también otros aspectos ambientales e inflamatorios, así como micro y macronutrientes.

Como se expuso muchos de los estudios prospectivos y retrospectivos (39) (44), actualmente son contradictorios sobre el impacto real de la vitamina D sobre la resistencia a la insulina y el desarrollo de DMT2 y esto probablemente secundario a las diferentes técnicas y ensayos diversos para la cuantificación de la misma, lo cual sesga los resultados para que pudiesen compararse entre ellos.

En cuanto a este estudio se midió la proteína de unión que se une con alta afinidad como se ha mencionado y se ve poco influenciada por otras alteraciones bioquímicas que pudiesen alterar los resultados, como sucede al cuantificar otros metabolitos de forma directa; sin embargo no existen estudios en los que se haya utilizado esta molécula y relacionarla con pacientes con DMT2.

## 11. CONCLUSIONES.

Se concluye entonces que los pacientes de la muestra de este estudio transversal, residentes del Estado de México y con seguimiento en unidades de primer nivel de la Jurisdicción Sanitaria Toluca, presentan medias de glucosa plasmática tras ayuno muy por encima de las metas de control para la enfermedad, lo que disminuye su esperanza de vida y aumenta el riesgo de desarrollo de complicaciones a mediano y largo plazo.

En cuanto a la funcionalidad de las células beta, esto cuantificado de forma indirecta por el índice HOMA – B para ambos grupos, la media es mayor al 30 % que habla de reserva pancreática esto se explica por qué los pacientes estudiados no tienen una evolución larga de la enfermedad. Lo que sí se pudo observar, es que existe un gran número con pacientes con resistencia a la insulina, independientemente de que estuvieran en normopeso ( $3.41 \pm 1.97$ ) o que tuvieran sobrepeso ( $3.08 \pm 1.65$ ).

Por su parte, se observó que una pequeña proporción la muestra siendo del 14%, se encontró concentraciones de proteína de unión a vitamina D por debajo del punto de cohorte reportado.

No se encontró en el presente trabajo de investigación una asociación significativa entre las concentraciones séricas de proteína de unión a vitamina D con los índices HOMA – IR o HOMA – B; esta situación no mostro ser diferente para ninguno de los dos grupos (DMT2 NP o DMT2 SP) en los que se dividió la muestra.

Pese que existe sólida evidencia sobre la relación entre la concentración disminuida de vitamina D y el aumento en la resistencia a la insulina y por ende en el desarrollo de Diabetes Mellitus, no es así en la investigación sobre la determinación de proteína de unión a vitamina D lo cual la vuelve un factor de mayor interés.

## 12. RECOMEDACIONES

- Reconocer a la Diabetes Mellitus tipo 2 como una enfermedad global que disminuye la calidad de vida de los pacientes por las complicaciones que conlleva, generando así aumento en costos en salud pública.
- Buscar estrategias terapéuticas que logren un mejor control de la DMT2, disminuyendo así la aparición temprana de complicaciones micro y macro vasculares en los pacientes.
- Considerar a la vitamina D como un elemento más en la fisiopatogenia de la DMT2 y por ende un buen objetivo terapéutico, en busca de que los pacientes puedan mejorar la respuesta a su tratamiento.
- Considerar a la hipovitaminosis D como un padecimiento real, cada vez más prevalente y asociado a diversas patologías como, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares e incluso neoplasias.

### 13. BIBLIOGRAFÍA

1. Morales – Kuri PA. Bolentín Epidemiológico Diabetes Mellitus Tipo 2 primer trimestre-2013. In: Epidemiología DGd, editor. Secretaría de Salud: Subsecretaría de prevención y promoción a la salud; 2013. p. 1-25.
2. WHO. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country 2000-2012. In: WHO, editor. Geneva: WHO; 2014. p. 1-42.
3. ENSANUT. [http://www.insp.mx/ensanut/resultados\\_ensanut.html](http://www.insp.mx/ensanut/resultados_ensanut.html) 2012.
4. Herreman MZ. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Diabetes Mellitus Tipo 2. In: Epidemiología DGd, editor. 1 ed. Secretaría de Salud: Secretaría de Salud; 2012. p. 11-77.
5. Bolaños RR, Shigematsu LMR, Ruíz JAJ, Márquez SAJ, Ávila MH. Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo. *Rev Panam Salud Publica.* 2010;28(6):412–20.
6. Pomar B, Martín ÁS. Puesta al día sobre el paciente diabético. *Diabetes Mellitus tipo 2. Nutr Hosp Suplementos.* 2010;3(1):23-34.
7. Ayala EG. Terapia insulínica. *OFFARM.* 2008;27(10):72-80.
8. Gastaldelli A. Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.*93:S60-S5.
9. Villagrana RDC, Bernal JMP. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células  $\beta$  pancreáticas. *Revista de Endocrinología y Nutrición.* 2013;21(3):98-106.
10. Gardner DG. Greenspan. In: Shoback D, editor. *Endocrinología básica y clínica.* 9 ed: McGraw-Hill; 2012. p. 573-644.
11. Gastaldelli A. Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2011;93:S60-S5.
12. King A, Bowe J. Animal models for diabetes: Understanding the pathogenesis and finding new treatments. *Biochemical pharmacology.* 2015.
13. Hernando R. Etiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2 *Rev Mex Cardiol.* 2011;22(1):39-43.
14. Poitout VR. Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology.* 2002;143(2):339-42.
15. Sivitz WI. Lipotoxicity and glucotoxicity in type 2 diabetes. Effects on development and progression. *Postgrad Med* 2001;109(4):55-9.
16. Pickup JC. Inflammation and Activated Innate Immunity in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27(3):813–23.
17. Zozulinska D, Wierusz-Wysocka B. Type 2 diabetes mellitus as inflammatory disease. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2006;74(2):S12-S6.
18. Bongartz T, Kudva Y. Can Treatment of Chronic Inflammatory Diseases Reduce the Risk of Diabetes Mellitus. *Jama.* 2011;305(24):22-9.
19. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Eshes JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, et al. Interleukin-1–Receptor Antagonist in Type 2 Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 2007;356(1517-1526).
20. Kohlgruber A, Lynch L. Adipose Tissue Inflammation in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Current diabetes reports.* 2015;15(11):92.
21. Pickup JC, Crook MA. Is Type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia.* 1998;41:1241-8.
22. Polonsky KS. The past 200 years in diabetes. *N Engl J Med.* 2012;367(14):1332-40.

23. Executive summary: Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35(1):S4-S10.
24. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. . *Diabetes Care* 2015;38(1):8-16.
25. García FE, Tinahones G. Homeostatic Model Assessment (HOMA). Aplicaciones prácticas. *Av Diabetol*. 2008;24(4):291-5.
26. Hernández TI, Vargas GD. Utilidad del índice HOMA-IR con una sola determinación de insulinemia para diagnosticar resistencia insulínica. *Revista Cubana de Endocrinología*. 2011;22(2):69-77.
27. Martínez MH, López AM. Métodos diagnósticos de la resistencia a la insulina en población pediátrica. *Bol Med Hosp Infantil Mex*. 2011;68(5):397-404.
28. Machado MRC, Gomes Junior SC, Marinheiro LPF. Vitamina D e diabetes mellitus, suas epidemias e o envelhecimento. O que há de novo? *Reprodução & Climatério*. 2014;29(2):54-9.
29. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(suppl):1689–96.
30. Querales MI, Cruces ME, Rojas S, Sánchez L. Deficiencia de vitamina D: ¿Factor de riesgo de síndrome metabólico? *Revista médica de Chile*. 2010;138:1312-8.
31. Quantikine. Human Vitamin DBP Immunoassay In: RnDSystems, editor. 2012. p. 1-12.
32. Verboven C, Rabijns A, De Maeyer M, Van Baelen H, Bouillon R, De Ranter C. A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nature structural biology*. 2002;9(2):131-6.
33. Barragan M, Good M, Kolls JK. Regulation of Dendritic Cell Function by Vitamin D. *Nutrients*. 2015;7(9):8127-51.
34. Vaishya R, Vijay V, Agarwal AK, Jahangir J. Resurgence of vitamin D: Old wine in new bottle. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*. 2015;6(3):173-83.
35. De Courten B, Mousa A, Naderpoor N, Teede H, De Courten MP, Scragg R. Vitamin D supplementation for the prevention of type 2 diabetes in overweight adults: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015;16:335.
36. Al-Shoumer KA, Al-Essa TM. Is there a relationship between vitamin D with insulin resistance and diabetes mellitus? *World journal of diabetes*. 2015;6(8):1057-64.
37. Cruz JRG. Vitamina D y diabetes mellitus tipo 2. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2010;18(4):186-93.
38. Flores M. A role of vitamin D in low-intensity chronic inflammation and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus? *Nutrition research reviews*. 2005;18(2):175-82.
39. Pittas GA, Lau J, F. H. The Role of Vitamin D and Calcium in type 2 diabetes; a systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(6):2017-29.
40. Querales IM, Mendoza C, ME. M. Vitamina D en pacientes con Síndrome Metabólico de la ciudad de Valencia, Venezuela. . *An Venez Nutr* 2013;26(1):78-85.
41. Sonderman JS, Munro HM, Blot WJ, Signorello LB. Reproducibility of Serum 25-Hydroxyvitamin D and Vitamin D-Binding Protein Levels Over Time in a Prospective Cohort Study of Black and White Adults. *American Journal of Epidemiology*. 2012;176(7):615-21.
42. Contreras Zambrano MA. Disfunción beta pancreática. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 2008;6:1-5.
43. Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, et al. Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *N Engl J Med*. 2013;369(21):1991-2000.

44. Ying HQ, Sun HL, He BS, Pan YQ, Wang F, Deng QW, et al. Circulating vitamin D binding protein, total, free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D and risk of colorectal cancer. *Scientific reports*. 2015;5:7956.
45. Bhan I. Vitamin d binding protein and bone health. *International journal of endocrinology*. 2014;2014:561214.
46. Marques VP, Vollenweider P, I. G. Serum Vitamin D Concentrations are not associated with Insulin Resistance en Swiss. *The Journal Nutrition*. 2015;115(1):2117-21.
47. Guadarrama - López AL, Valdés - Ramos R, Kaufer - Horwitz M, Laurence S. H, Contreras GI, Martinez – Carrillo BE. Relación entre el consumo habitual de vitamina D y función de las células  $\beta$  pancreáticas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 del Estado de México. in press.
48. Tapia JJ. Manual de procedimientos médico quirúrgicos para el médico general. In: Alfí, editor. México2005. p. 125-32.

## 14. ANEXOS

### ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
CUERPO ACADEMICO DE NUTRICIÓN Y SALUD



Proyecto de Investigación: **“Efecto de la suplementación con vitamina D sobre el proceso Inmuno-inflamatorio en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 en México”**.

Investigadores: Dra. en C. Roxana Valdés Ramos, Dra. en C.S. Ana Laura Guadarrama López. (UAEM).

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION

La Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México en colaboración con el Instituto de Salud del Estado de México (ISEM) llevará a cabo un estudio en pacientes diabéticos tipo 2 residentes del Estado de México.

El propósito de este programa es evaluar la relación existente entre el consumo de suplementos de vitamina D y algunos indicadores de inflamación crónica y de los sistemas de defensa del organismo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Después de leer la siguiente carta, por favor indique si está de acuerdo en participar en el estudio y de ser así firme el documento.

El estudio es la continuación del proyecto en cual usted ya participó, consistirá en acudir al Centro de Salud, donde se le asignará al azar a uno de los cuatro grupos de estudio; durante su cita mensual programada con el Médico se le proporcionará un suplemento alimenticio cuya presentación será en forma de cápsulas de gel y que usted consumirá por 6 meses, al término de los mismos se le programará una cita para realizarle nuevamente las mediciones corporales y recolectar una muestra de sangre, tal como se le practicaron en la primera etapa del proyecto.

Cuando haya concluidos su tratamiento, se le programará una cita se le realizará un breve interrogatorio con respecto al consumo del suplemento que le fue proporcionado. El tiempo aproximado para contestar estas preguntas es de 10 minutos. Además se le realizarán nuevamente mediciones de peso, estatura y circunferencia de cintura, por lo que se le recomienda acudir con ropa cómoda; el tiempo aproximado para estas mediciones es de 20 minutos.

Además se le tomará una muestra de 28.5 mL de sangre, por lo cual deberá acudir en ayuno total de 12 horas. La toma de muestra sanguínea será realizada por personal profesional capacitado y se realizará una punción en el brazo, la cual puede ocasionar cierta incomodidad o algún tipo de moretón, pero no representa ningún otro tipo de riesgo. Todo el material utilizado será nuevo, desechable y estéril.

Las mediciones y los exámenes de sangre, al igual que el suplemento alimenticio se proporcionarán SIN COSTO alguno para usted y los resultados le serán entregados con interpretación al final del proyecto de manera personalizada.

La participación en el estudio es totalmente voluntaria y tiene la opción de rechazar o retirarse de la investigación en el momento que usted lo decida, sin que esto afecte la atención que usted recibe regularmente en el Centro de Salud. También puede negarse a contestar cualquier pregunta que lo haga sentirse incómodo u incomoda. **NO EXISTIRÁ NINGÚN TIPO DE COMPENSACIÓN ECONÓMICA** de parte de la Universidad o del Instituto por su participación en esta investigación.

La información que usted nos proporcione, será estrictamente confidencial, los cuestionarios aplicados serán almacenados en un lugar seguro y serán destruidos aproximadamente en tres años. Cuando los resultados de esta investigación sean presentados en foros científicos o publicados, serán siempre de manera grupal, por lo que no existe posibilidad de que sus datos sean identificados de manera individual.

Esta investigación ha sido revisada y aprobada por el Comité de Bioética e Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Después de que se me explicaron los procedimientos, beneficios y riesgos de este estudio, declaro que he leído y comprendido las explicaciones que se me han dado a todas mis preguntas y al asentar mi firma en este documento, acepto voluntariamente participar en esta investigación.

---

Nombre y firma del participante

---

Nombre y firma del investigador

---

Nombre y firma del personal de ISEM

---

Nombre, firma y parentesco de testigo

---

Nombre, firma y parentesco de testigo

Para cualquier información adicional o aclaración, favor de comunicarse con:  
Dra. Ana Laura Guadarrama López ó Dra. Roxana Valdés Ramos al teléfono  
01 (722) 2 17 48 31 ext. 122 de 08:00 a 15:00 horas.

## ANEXO 2. HISTORIA CLÍNICA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
CUERPO ACADÉMICO DE NUTRICIÓN Y SALUD



Proyecto de Investigación: Proyecto de Investigación: **“Efecto de la suplementación con ácidos grasos Omega 3 y vitamina D sobre el proceso Inmuno-inflamatorio en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 en México”**.

Investigadores: Dra. en C. Roxana Valdés Ramos, Dra. en C.S. Ana Laura Guadarrama López. (UAEM).

### HISTORIA CLÍNICA GENERAL

Unidad médica: \_\_\_\_\_ Número de paciente: \_\_\_\_\_

#### DATOS GENERALES

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Género: \_\_\_\_\_  
 M  F

Domicilio (calle, número exterior, número interior, colonia, localidad, municipio): \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Diabéticos: \_\_\_\_\_ Hipertensos: \_\_\_\_\_ Neoplásicos: \_\_\_\_\_ Otros: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES PERSONALES NO PATÓLOGICOS

Condiciones de vivienda:  B  R  M Hábitos Higiénicos:  B  R  M

Exposición : \_\_\_\_\_ Toxicomanías: \_\_\_\_\_

Humos  Polvos  No  Si ¿Cuáles?

¿Cuánto tiempo?

#### ANTECEDENTES PERSONALES PATÓLOGICOS

Quirúrgicos: \_\_\_\_\_ Alérgicos: \_\_\_\_\_ Transfusionales: \_\_\_\_\_ Otros: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES GINECO-OBSTETRICOS

Menarca: \_\_\_\_\_ Ritmo: \_\_\_\_\_ I.V.S.A.: \_\_\_\_\_ Gesta: \_\_\_\_\_

PARA: \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_ Cesáreas: \_\_\_\_\_ F.U.P: \_\_\_\_\_

---

---

F.U.M:

F.U. Citología:

Climaterio:

Método anticonceptivo:

Temporal

Definitivo

---

**PADECIMIENTO ACTUAL**

P. (problema)

S. (síntomas)

O. (exploración física)

A. (diagnostico)

P. (nombre del medicamento, dosis, vía, duración)

1

2

3

Otras medidas e indicaciones. (problema)

---

**EXPLORACIÓN FÍSICA**

T.A.

F.R.

T.

PESO:

TALLA:

I.M.C.

MASA MAGRA:

% GRASA:

% AGUA:

C.C:

OTROS:

Hábito exterior

Palidez de tegumentos:

Mucosas hidratadas:

Si

No

Si

No

Normal

Anormal

Campos Pulmonares Ventilados

Alteraciones de Frecuencia, Ritmo y Tonacidad Cardíaca:

Bien

Mal

Si

No

---

Otra signología agregada:

---

---

---

---

---

### **ANEXO 3. TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA**

1. Preparar el material necesario.
2. Realizar lavado de manos clínico.
3. Informar al paciente en relación al procedimiento.
4. Acomodar al paciente en una posición que sea confortable tanto para el propio paciente como para el médico, con el brazo apoyado en una superficie plana y firme, así mismo asegúrese de que la iluminación es adecuada.
5. Colocar torniquete 5-10 cm por encima del sitio a puncionar (no mantenerlo por más de 3 minutos, para evitar la hemoconcentración).
6. Seleccionar la vena a puncionar mediante palpación.

Las venas más utilizadas para la venopunción, están localizadas en el área antecubital. Entre éstas tenemos: a) Vena Cubital: Es la más larga y gruesa de todas y es la preferida por bordear la musculatura del brazo. b) Vena Cefálica: Tiene iguales características de la anterior, pero es un poco menos gruesa. c) Vena Basílica: Es más pequeña que las anteriores. Esta vena está cerca de la arteria braquial, por lo que su punción es riesgosa y su área es más sensible y dolorosa para el paciente. Evite áreas con hematoma, fístulas, quemaduras, escoriaciones de la piel o cicatrices.

7. Realizar asepsia con alcohol etílico o isopropílico a 70%.
8. Realizar el enguantado con técnica estéril.
9. Antes de puncionar observar que el bisel este hacia arriba; en ángulo de 10° y 30° para atravesar la piel y luego disminuir el ángulo para no atravesar la vena.
10. Cuando llega el retorno venoso, soltar la fijación, aflojar el torniquete y permitir el llenado de equipo vacutainer hasta tener la cantidad de sangre necesaria.
11. Presionar el algodón sobre el sitio de la punción aplicando una presión adecuada y no excesiva para evitar la formación de hematoma (48).

#### **ANEXO 4. DETERMINACIÓN DE INSULINA**

1. Diluir el concentrado 10X HRP (buffer de lavado) mediante la mezcla de todo el contenido con 450 mL de agua desionizada o agua destilada.
2. Retirar el número necesario de tiras de la placa de microtitulación de ensayo. Las tiras no usadas deberán guardarse en la bolsa de aluminio y se almacenarán a 2-8 °C. Unir las tiras en una placa vacía y llenar cada pozo con 300 µl de buffer de lavado HRP diluido. Se incubará a temperatura ambiente durante 5 minutos.  
Procedimiento de lavado: Decantar el buffer de lavado y retirar la cantidad residual de todos los pozos invirtiendo la placa y golpear firmemente sobre toallas absorbentes varias veces. No dejar que los pozos se sequen antes de proceder al próximo paso.
3. Añadir 20 µl buffer de ensayo a los pozos NSB (unión no específica) y cada uno de los pozos de muestras.
4. Añadir 20 µl solución matriz a la NSB, estándar y de control de pozos.
5. Agregar por duplicado 20 µl del estándar en orden en concentración ascendente en los pozos apropiados. Añadir 20 µl control 1 y control 2, 20 µl a los pozos apropiados.
6. Añadir secuencialmente 20 µl de las muestras desconocidas por duplicado a los pozos restantes.
7. Añadir 20 µl de anticuerpos de detección a todos los pozos. Para mejores resultados todas las adiciones deberán ser completadas dentro de los 30 minutos.
8. Cubrir la placa con un sellador de placa e incubar a temperatura ambiente durante 1 hora. Agitar a velocidad moderada (aproximadamente 400 a 500 rpm). Retirar por decantación la solución restante de la placa.
9. Lavar los pozos 3 veces con buffer de lavado diluido HRP, 300 µl por pozo por lavado.
10. Añadir 100 µl de Solución Enzimática a cada pozo. Cubrir la placa con el sellador e incubar con moderada agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos en la placa de agitación.
11. Lavar los pozos 5 veces con buffer de lavado diluido HRP 300 µl por pozo por lavado.
12. Añadir 100 µL de sustrato a cada pozo, cubrir la placa con sellador y agitar durante aproximadamente 5 a 20 minutos. El color azul se debe formar en los pozos de insulina con intensidad proporcional a concentraciones crecientes de insulina.

13. Retirar el sellador y añadir 100 µl de solución de paro.
14. Se realiza lectura de la placa a 450 nm.
15. La curva dosis-respuesta se ajusta mejor a una sigmoideal 4 o a ecuación parámetro logístico 5.
16. Los resultados de las muestras desconocidas pueden ser calculados con cualquier software que contiene la función logística de 4 ó 5 parámetros.
17. El ensayo debe considerarse aceptado cuando los valores de controles de calidad (control 1 y control 2) se encuentran dentro de los rangos proporcionados en el kit.

## ANEXO 5 DETERMINACIÓN DE PROTEINA DE UNIÓN A VITAMINA D

1. Preparar todos los reactivos, controles, estándares, y las muestras.
2. Preparación de la muestra: Las muestras de suero y de plasma requieren una dilución 1:2000. Esta dilución de 1:2000 se puede lograr mediante la adición de 20  $\mu$ l de muestra a 980  $\mu$ l de calibrador Diluyente RD6-11. Completar la dilución 1:2000 mediante la adición de 25  $\mu$ l de la muestra diluida a 975  $\mu$ l de calibrador Diluyente RD6-11.
3. Retirar el exceso de tiras de microplacas del marco de la placa, devolverlos a la bolsa de aluminio con desecante y vuelva a sellar.
4. Añadir 100 mL de Diluyente de Ensayo RD1-19 a cada pozo.
5. Añadir 50  $\mu$ l de estándar, control o muestra por pozo. Cubrir con la tira adhesiva proporcionada. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador de microplacas orbital horizontal (0.12 "órbita) regulado a  $500 \pm 50$  rpm.
6. Lavar los pozos 3 veces con buffer de lavado (400  $\mu$ l) por pozo por lavado utilizando una jeringa, colector dispensador, o auto - lavado. La eliminación completa del líquido en cada paso es esencial para un buen resultado. Después del último lavado, eliminar cualquier solución restante mediante la aspiración o decantación. Invertir la placa y golpear contra una toalla de papel limpia.
7. Añadir 200  $\mu$ l de concentrado de DBP a cada pozo. Cubrir con una nueva tira adhesiva. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en el agitador.
8. Repetir la aspiración y lavado como en el paso 6.
9. Añadir 200  $\mu$ l de solución a cada pozo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente en la mesa de trabajo. Proteger de la luz.
10. Añadir 50  $\mu$ l de solución de paro a cada pozo. Si el cambio de color no aparece uniforme, toque suavemente la placa para asegurar una buena mezcla.
11. Determinar la densidad óptica de cada pozo en 30 minutos, usando un lector de microplacas ajustado a 450 nm. Si la corrección de longitud de onda está disponible, ajustado a 540 nm o 570 nm. Si la corrección de longitud de onda no está disponible, restar las lecturas a 540 nm o 570 nm a partir de las lecturas 450 nm. Esta resta corrige las imperfecciones ópticas en la placa. Las lecturas hechas directamente a 450 nm sin corrección pueden ser menos precisa.

### Cálculo de resultados

1. La media de las lecturas por duplicado para cada reactivo, control y muestra y restar la media estándar de densidad óptica (D.O.).

2. Crear una curva estándar mediante la reducción de los datos utilizando un software capaz de generar una curva de 4 parámetros (4-PL).
3. Si las muestras han sido diluidas, la concentración de la curva estándar debe ser multiplicada por el factor de dilución.