



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
IMSS**

**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD HE CMNR
"ANTONIO FRAGA MOURET"
MEDICINA INTERNA**

**EFFECTO DE LA ROSIGLITAZONA SOBRE EL LIGANDO CD40
PLAQUETARIO Y CD40 SOLUBLE Y LA FORMA SOLUBLE DE LA
MOLECULA DE ADHESION INTERCELULAR -1 Y MOLÉCULA DE
ADHESIÓN CELULAR VASCULAR -1 EN PACIENTES CON DIABETES
MELLITUS-2**

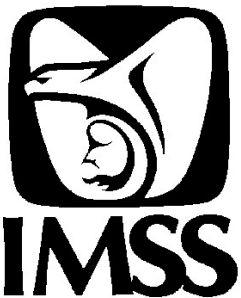
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
P R E S E N T A :**

DR. MAXIMILIANO GARCÍA DE LA PEÑA

ASESOR DE TESIS: DR. MOISES CASARRUBIAS RAMÍREZ.

MÉXICO, D. F. 2008





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
IMSS
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD HE CMNR
"ANTONIO FRAGA MOURET"
MEDICINA INTERNA**

**EFFECTO DE LA ROSIGLITAZONA SOBRE EL LIGANDO CD40
PLAQUETARIO Y CD40 SOLUBLE Y LA FORMA SOLUBLE DE LA
MOLECULA DE ADHESION INTERCELULAR -1 Y MOLÉCULA DE
ADHESIÓN CELULAR VASCULAR -1 EN PACIENTES CON DIABETES
MELLITUS-2**

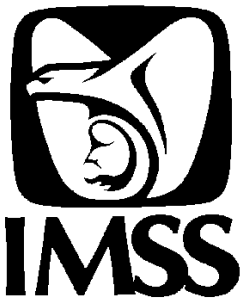
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA
P R E S E N T A :**

DR. MAXIMILIANO GARCÍA DE LA PEÑA

ASESOR DE TESIS: DR. MOISES CASARRUBIAS RAMÍREZ.

MÉXICO, D. F. 2008



DR. JESÚS ARENAS OSUNA.

Jefe de División en Educación Médica

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

DRA. OLGA LIDIA VERA LASTRA

Jefatura de Medicina Interna

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

DR. MAXIMILIANO GARCÍA DE LA PEÑA

Médico Residente de Cuarto año en Medicina Interna.

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

R-2007-3501-88

ÍNDICE.

I. RESUMEN.

II. ANTECEDENTES.

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

IV. RESULTADOS

V. DISCUSIÓN.

VI. CONCLUSIONES

VII. BIBLIOGRAFÍA.

VIII. ANEXOS.

RESUMEN.

Resumen. La diabetes mellitus incrementa el riesgo de aterosclerosis y eventos cardiovasculares. El CD40L plaquetario está directamente involucrado en el desarrollo de aterosclerosis y sus complicaciones.

Objetivo. Evaluar el efecto de Rosiglitazona en la expresión del Ligando CD40 plaquetario y su forma soluble en pacientes diabéticos.

Tipo de estudio. Ensayo Clínico Aleatorizado Controlado de grupos paralelos.

Lugar de realización. Medicina Interna del HECMNR.

Sujetos de estudio. 45 pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Material y métodos. Los pacientes se aleatorizaron a recibir Metformina o Rosiglitazona durante 12 semanas. Se hicieron mediciones basales y cada cuatro semanas de CD40L en la membrana plaquetaria mediante citometría de flujo, así como ELISA para sCD40L, sICAM-1 y sVCAM-1.

Resultados. Se incluyeron 45 pacientes, 22 en el grupo de Metformina (12 como monoterapia y 10 combinado con Glibenclamida) y 23 en Rosiglitazona (12 como monoterapia y 11 combinado con Glibenclamida). Al inicio el CD40L plaquetario se expresó más en el grupo de Metformin que en la Rosiglitazona 4287 Vs 6304 UFT ($p=0.54$). Posterior a 4 semanas de tratamiento hubo un descenso en la expresión del CD40L plaquetario en el grupo experimental pero no en el grupo control, 8986 Vs 4549 UFT ($p=0.2$) (Descenso 27% respecto a la medición basal). Sin embargo luego de un mes de tratamiento aún no se alcanza significancia estadística.

Conclusiones: El tratamiento con Rosiglitazona disminuye la expresión de CD40L en la membrana plaquetaria cuando se administra como monoterapia pero no cuando se administra combinada con Glibenclamida.

Palabras Claves: Diabetes mellitus, Rosiglitazona, Ligando CD40

SUMMARY

Abstract. Type 2 Diabetes Mellitus Increases the risk of atherosclerosis and cardiovascular events. The CD40 ligand is directly involved in the development of atherosclerosis and its complications.

Objectives: To assess the effect of Rosiglitazone in the expression of CD40 ligand platelet and its soluble form in diabetic patients

Design: Randomized Clinical Trial

Setting: Internal Medicine HECMNR

Materials and Methods: Patients were randomly assigned to receive Metformin or Rosiglitazone for 12 weeks. And baseline measurements were made every four weeks of CD40L in the platelet membrane by flow cytometry, as well as for Elisa sCD40L, sICAM-1 and sVCAM-1.

Results: We include 45 patients, 22 in the group Metformin (12 as monotherapy and 10 combined with glibenclamide) and 23 in Rosiglitazone (12 as monotherapy and 11 combined with glibenclamide). At the beginning CD40L platelet was expressed more in the metformin group than Rosiglitazone group 4287 Vs 6304 UFT ($p = 0.54$). After 4 weeks of treatment there was a decrease in the expression of platelet CD40L in the experimental group but not in the control group 8986 Vs 4549 UFT ($p= 0.2$). (Decrease 27% compared to the baseline measurement). However after a month of treatment still is not reached statistical significance

Conclusions: Treatment with Rosiglitazone decreases the expression of CD40L in the platelet membrane when given as monotherapy but not when administered in combination with glibenclamide

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, Rosiglitazone, CD40 ligand

ANTECEDENTES

Diabetes Mellitus tipo 2

Actualmente, la diabetes mellitus está presente en proporciones epidémicas, constituyendo un grave problema de salud pública, siendo la enfermedad metabólica más común, estimándose que para el año 2010 habrá en el mundo 216 millones de individuos afectados (1).

En México, según reportes de la encuesta nacional de salud del año 2000 en los individuos de 20 años o mayores la prevalencia de Diabetes fue de 7.5%. Al expandir estos resultados se estimó que existen al menos 2.8 millones de adultos que se conocen diabéticos. La prevalencia en derechohabientes del IMSS fue de 8.9% (2). Datos más recientes reportados en la ENSANUT 2006 encontró una prevalencia de 7% a nivel nacional, aunque los datos definitivos aún están por confirmarse (3).

Aterosclerosis

La *aterosclerosis* es un termino descriptivo para las lesiones gruesas y duras de la muscular de las arterias elásticas. Estas lesiones se pueden complicar con la formación de un trombo ya sea mural u oclusivo, pudiendo causar isquemia, con el inicio de angina o necrosis y la secuela clínica característica del infarto al miocardio, infarto cerebral o gangrena de las extremidades, entonces el término es llamado *aterotrombosis* (4).

El impacto derivado de las complicaciones de la aterosclerosis es enorme. Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de enfermedad y muerte en la mayoría de los países. (5).

Diabetes Mellitus como factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares

Los pacientes con diabetes tienen un riesgo incrementado de padecer enfermedad cardiovascular, un riesgo que contribuye a disminuir significativamente la expectativa de vida.

El riesgo de sufrir un infarto en pacientes con diabetes es comparable al de la recurrencia de un infarto en una persona sin diabetes. De los pacientes con diabetes el 75 a 80% muere a causa de un evento trombótico. La diabetes está asociada con un incremento de 2 a 4 veces en el riesgo de enfermedad cardiovascular. Este incremento en el riesgo es el principal factor subyacente al

exceso de mortalidad y reducción en la expectativa de vida de personas con diabetes mellitus tipo 2 (6-14).

Moléculas de Adhesión Celular: ICAM-1 y VCAM-1

Las moléculas de adhesión celular, son estructuras codificadas por genes de la superfamilia de las inmunoglobulinas (IgSF), y consisten en más de 25 moléculas. Como con las integrinas, estas moléculas son responsables de la adhesión a otros ligandos de superficie celular y tienen importantes funciones de señal.

Las moléculas de adhesión celular han sido evaluadas como marcadores de riesgo de futuros eventos cardiovasculares, y se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre elevadas concentraciones de las fracciones solubles de estos marcadores de activación endotelial y el posterior desarrollo de eventos trombóticos (15-17)

Las plaquetas y su papel en la Aterosclerosis

La idea tradicional que se tiene de las plaquetas es a considerarlas simplemente como fragmentos subcelulares y anucleares que se encuentran circulando en la sangre como pequeños discos mitigando hemorragias. Esta idea clásica acerca de que la principal función de una plaqueta se encuentra en la hemostasia ha cambiado debido a las investigaciones realizadas en últimos años, las cuales confirman a las plaquetas como elementos importantes mediadores de inflamación crónica. El campo de la biología de la plaqueta rápidamente se está expandiendo y ha vinculado a la plaqueta a las complicaciones vasculares observadas en enfermedades cardiovasculares y en diabetes mellitus tipo 2 (18-20).

Ligando CD40 plaquetario y Ligando CD40 soluble

Contribuyendo a nuestro entendimiento del papel de las plaquetas en la inflamación están las interacciones del ligando CD40/CD40L.

El CD40 es una glicoproteína que pertenece a la superfamilia de receptores de Factor de Necrosis Tumoral (TNFR). El complemento o ligando para el CD40, (CD40L, formalmente llamado CD154), es una glicoproteína miembro de la superfamilia de genes de TNF. Aparte de la fuente original, los linfocitos T activados, numerosos tipos celulares expresan CD40L,

incluyendo aquellos implicados en aterogenesis, principalmente células endoteliales, células de músculo liso, macrófagos y plaquetas.

Aunque en algún tiempo las interacciones CD40/CD40L se reconocieron como de importancia crítica en la respuesta inmune adaptativa, ahora también se ha demostrado que el CD40 regula una amplia gama de funciones biológicas in vivo e in vitro, extendiéndose su función desde de la inmunidad celular a la inflamación, dos procesos íntimamente involucrados en la aterogénesis (21). Recientes trabajos han demostrado que las señales CD40L/CD40 son críticas en la patogénesis de la aterosclerosis (22-24).

La interacción CD40/CD40L juega un papel importante en toda la historia natural de la aterosclerosis, desde su iniciación, progresión hasta las complicaciones trombóticas agudas consecuencia de la misma. La interrupción de la interacción CD40/CD40L parece ser un excelente blanco terapéutico dado que en estudios in vivo se ha demostrado mejoría en enfermedades experimentales en animales con la administración de anticuerpos anti CD40L.

La sobre-regulación de la vía CD40/CD40L promueve la progresión de aterosclerosis y puede incrementar el riesgo cardiovascular observado en diabéticos

Existen ya varios estudios clínicos que correlacionan las concentraciones séricas de ligando CD40L soluble (sCD40L) con eventos cardiovasculares (26-27)

Así, la vía de sCD40/CD40L es otro blanco potencial para terapéutica antiplaqueta (25).

Rosiglitazona

La Rosiglitazona pertenece a un grupo de antidiabéticos llamados tiazolidinedionas, los cuales que incrementan la sensibilidad a la insulina predominantemente en tejidos periféricos.

Rosiglitazona y Pioglitazona están actualmente aprobados en la mayoría de los países para el tratamiento de la hiperglucemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, ya sea como monoterapia o en combinación con sulfonilureas o Metformin (28-31).

Recientemente se generó una gran controversia sobre el empleo de Rosiglitazona en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Esto último debido a un meta-análisis publicado por el Dr. Nissen y Wolski (32), en donde encontraron una razón de momios para desarrollo de infarto de 1.43 en el grupo de rosiglitazona (IC 95% 1.03 a 1.98; P=0.03) y la OR para muerte cardiovascular en el

grupo de Rosiglitazona fue de 1.64 (IC 95% 0,98 a 2.74;P=0.06). Sin embargo este meta-análisis ha sido ampliamente criticado por deficiencias metodológicas (32-34). Posterior a este meta-análisis, se dieron a conocer los resultados de un ensayo clínico aleatorizado, realizado en 338 hospitales en 23 países de Europa y Australia (35). Los resultados no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos, Razón de Riesgo 1.11 (IC 95%, 0.93 a 1.32). Al analizar los resultados de muerte cardiovascular, tampoco se encontró diferencia estadísticamente significativa. Con los datos mostrados la FDA decidió la permanencia de la Roasiglitazona en el mercado bajo una estrecha vigilancia farmacológica. (36)

CD40L plaquetario y agonistas de PPAR γ

Recientemente se ha demostrado que las plaquetas, a pesar de ser fragmentos de células anucleadas, contienen en su citoplasma el receptor PPAR γ . Se ha observado además que los agonistas del receptor PPAR γ , pueden disminuir la activación plaquetaria y la liberación del sCD40L. (37-38)

Con base en lo expuesto previamente nos propusimos realizar un ensayo clínico controlado aleatorizado comparando los efectos de Rosiglitazona sobre la expresión de CD40L tanto en la superficie plaquetaria como en su forma soluble, además de evaluar la consecuencia de esta expresión, como lo son la sobre-expresión y por lo tanto el incremento en las formas solubles de las moléculas de adhesión celular endoteliales ICAM-1 y VCAM-1 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Objetivos

Objetivo General

Determinar el efecto del tratamiento con Rosiglitazona en la expresión del ligando CD40 en la superficie plaquetaria, así como en su forma soluble en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2

Objetivos Particulares

Evaluar el efecto del tratamiento con Rosiglitazona en las concentraciones séricas de la forma soluble de las moléculas de adhesión celular ICAM-1 y VCAM-1 en pacientes con Diabetes Mellitus tipo

Diseño del estudio.

Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado de Grupos Paralelos

El estudio fue realizado en el departamento de Medicina Interna del Hospital de Especialidades en la Unidad Médica de Alta Especialidad Centro Médico Nacional “La Raza”. En el periodo comprendido entre marzo y julio de 2008 se capturaron pacientes de la consulta externa de medicina interna de la UMAE “La “Raza”, y en la consulta de medicina familiar en una unidad médica de primer nivel de atención. El proyecto fue aprobado por el comité local de ética e investigación y los pacientes participantes firmaron consentimiento informado.

Criterios de inclusión:

- Pacientes con diabetes mellitus tipo 2
- Sexo masculino o femenino
- Mayores de 18 años de edad
- Derechohabientes del IMSS
- Consentimiento informado por escrito
- En tratamiento con Metformina, ya sea como monoterapia o en combinación con algún secretagogo.
- Glucosa sérica menor de 200 mg/dL

Criterios de no inclusión:

- En tratamiento actual o previo con alguna tiazolidinediona
- Cardiopatía isquémica: Angina crónica estable, Angina inestable o infarto del miocardio durante las 4 semanas previas
- Daño en la función hepática (≥ 2.5 veces el valor normal)
- Insuficiencia Cardíaca Congestiva CF III o IV de la NYHA
- Insuficiencia renal con depuración de creatinina < 30 ml/min
- Neoplasias
- Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
- Cirugía mayor reciente en las 2 semanas previas
- En tratamiento con cualquier tipo de insulina o sus análogos.

Criterios de exclusión

- Presencia de toxicidad hepática relacionada con la ingesta de Rosiglitazona
 - Desarrollo de Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula
 - Que durante el tiempo en que se desarrolle el estudio presente un evento de Síndrome Coronario Agudo, sintomatología de Insuficiencia Cardíaca Evento Vascular Cerebral o Tromboembolismo Pulmonar
 - Muerte
- Criterios de Eliminación
- Retiro de Consentimiento Informado

Criterios de eliminación.

- Retiro de Consentimiento Informado

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO:

Se seleccionaron a los pacientes diabéticos tipo 2 que se encontraban en tratamiento con Metformin ya sea en forma de monoterapia o como terapia combinada con Glibenclamida, y

que reunieron los criterios de selección. Para evitar que los sujetos que reciben monoterapia o terapia combinada se distribuyeran de una manera poco uniforme y representara una variable confusora se realizó una estrategia de pareamiento. Posteriormente los pacientes se aleatorizaron a continuar su tratamiento con Metformina o bien a sustituirla por Rosiglitazona, de esta manera se formaron dos grupos de estudio: El grupo de Metformina (Metformina en monoterapia o Metformina + Glibenclamida) y el grupo de Rosiglitazona (Rosiglitazona en monoterapia o Rosiglitazona + Glibenclamida).

A estos pacientes se les realizaron mediciones basales de CD40L plaquetario, y se encuentran en proceso las mediciones tanto basales como subsecuentes de las fracciones solubles de sCD40L y de las moléculas de adhesión endoteliales ICAM-1 y VCAM-1.

Además se realizarón otros exámenes de sangre entre los cuales se incluyeron citometría hemática completa (BHC), química sanguínea (QS) que comprendió glucosa, urea, creatinina, pruebas de función hepática (PFHs) albúmina, colesterol, aminotransferasa aspártica (AST), aminotransferasa de alanina (ALT) y fosfatasa alcalina (FA).

Se analizará CD40L plaquetario, sCD40L, VCAM-1 e ICAM-1 al inicio, a las 4, 8 y 12 semanas de la intervención. Igualmente se medirán con la misma frecuencia el resto de exámenes de laboratorio.

Se realizó evaluación del paciente en su visita inicial, se explicándole detalladamente en que consiste el estudio al igual que los efectos adversos de los medicamentos y el número de tomas de muestras que se obtendrían durante el estudio y se solicitó firma de consentimiento informado por escrito.

En cada cita al paciente se le realizó un interrogatorio acerca de su estado general y se buscó inducidamente síntomas correspondientes a efectos adversos del fármaco. Se registraron sus signos vitales y se efectuó una exploración física general; posterior a esto se procedió a realizar la toma de muestra con 10 ml de sangre para análisis de las pruebas de laboratorio.

ANÁLISIS DE DATOS.

Tamaño de la muestra

Se realizó el cálculo de tamaño de la muestra mediante la fórmula de diferencia de proporciones para variable cualitativa. Debido a que en el único trabajo donde se observa el efecto de la Rosiglitazona sobre el sCD40L los datos aportados no permiten obtener varianza, ni se expresan las cifras absolutas de las concentraciones séricas del mismo, únicamente se describe el porcentaje de descenso en los pacientes tratados. Con esta fórmula el número necesario a estudiar en cada uno de los grupos es de 19.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con la estrategia de intención de tratamiento. Se utilizó además las siguientes pruebas estadísticas.

- Análisis descriptivo. Distribución de frecuencias, media y desviaciones estándar de acuerdo a la escala de medición de las variables
- Análisis bivariado. Prueba de t para grupos independientes para comparar las concentraciones séricas de CD40L soluble, CD40L plaquetario, ICAM-1 y VCAM-1 antes y después del tratamiento experimental entre ambos grupos.

ayuno — mg/dL

Hiperlipidemia — no (%)

Dialipidemia — no (%)

Talcoquero — no (%)

Historia de

tuberculosis — no (%)

Fungo poro — no (%)

CD40 Plaquetario

unidades de

fluorescencia

12 (54)

5 (22)

3 (13)

0 (0)

3 (13)

4267.89

12 (63)

5 (21)

2 (8)

2 (8)

0 (0)

6304.14

0.37

0.65

0.70

0.37

0.37

0.54

Finalmente un total de 40 pacientes distribuidos tipo 2 (Tabla-1), con una edad media (±DC) de 55.62 ± 9.9 años y un tiempo promedio de la enfermedad desde su diagnóstico de 10 ± 9.6 años, fueron aleatoriamente asignados a dos grupos de estudio: Grupo de Metformina (20 pacientes) o Grupo de Rosiglitazona (20 pacientes) (Figura 1).

RESULTADOS

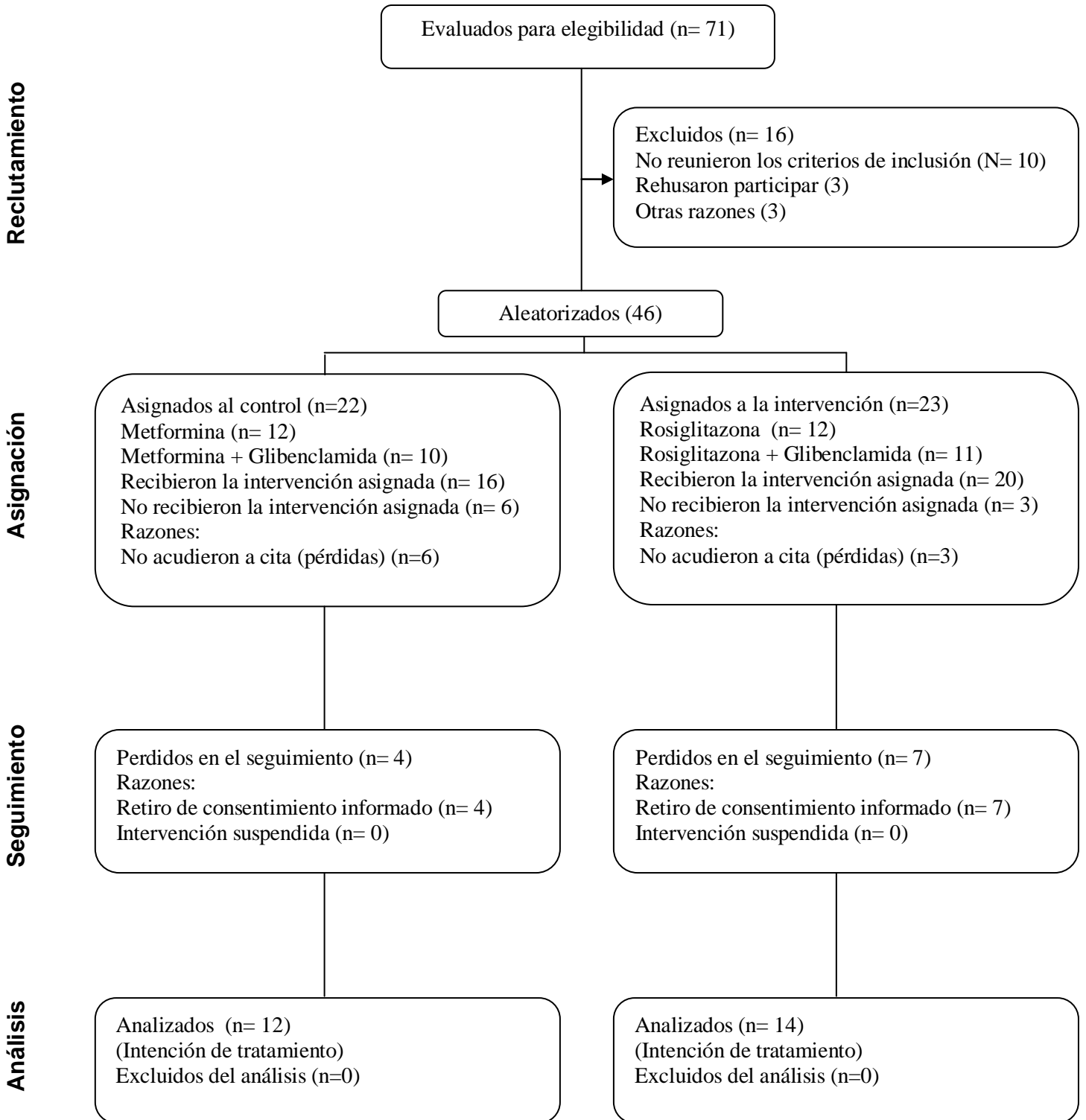
En el periodo comprendido de Marzo a Julio 2008 se evaluaron un total de 71 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, de los cuales, 16 fueron excluidos en la evaluación inicial: 10 de ellos por no reunir los criterios de selección, otros 3 rehusaron participar y los 3 restantes por diversas razones personales ajenas a su enfermedad (fig-1).

Tabla-1 Características basales de los pacientes			
Variable	Grupo Metformin (n=22)	Grupo Rosiglitazona (n=23)	Valor p
Sexo Femenino —no(%)	13 (59)	19 (82)	0.87
Sexo Masculino—no(%)	9 (41)	4 (18)	0.53
Edad—años	62.3	55.04	0.01
Monoterapia—no(%)	12 (54)	12 (52)	0.91
Terapia combinada			
con Sulfonilurea —no (%)	10 (46)	11 (48)	0.42
Tiempo del diagnóstico—años	8.59 ±1.6	8.45 ±1.4	0.95
IMC	29.24 ±4.2	29.96 ±4.3	0.57
Glucosa plasmática en ayuno — mg/dL	176±18	184 ±13	0.12
Hipertensión —no(%)	12(54)	12 (52)	0.37
Dislipidemia—no(%)	5 (22)	5 (21)	0.65
Tabaquismo —no(%)	3 (13)	2 (8)	0.70
Historia de tabaquismo—no(%)	0 (0)	2 (8)	
Fumador activo—no(%)	3 (13)	0 (0)	
CD40 Plaquetario (unidades de fluorescencia)	4287.89	6304.14	0.54

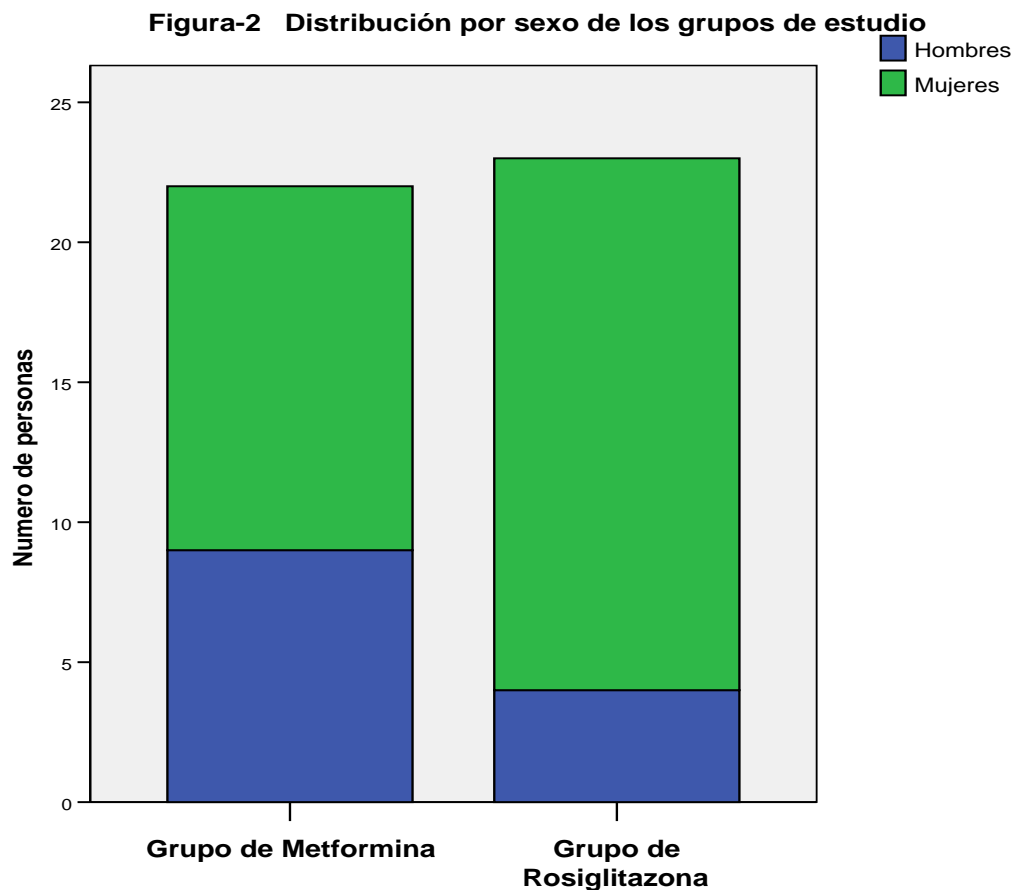
Finalmente un total de 45 pacientes diabéticos tipo 2 (Tabla.-1), con una edad media (\pm DE) de 58.62 ± 9.9 años y un tiempo de evolución de la enfermedad desde su diagnóstico de 8.5 ± 9.9 años, fueron aleatoriamente asignados a dos grupos de estudio: Grupo de Metformina (22 pacientes) o Grupo de Rosiglitazona (23 pacientes).Figura-1

Fig.-1

DIAGRAMA DE FLUJO



En el grupo de Metformina se encuentran 13 mujeres (59%) y 9 hombres (41%) y en el grupo de Rosiglitazona 19 mujeres (82%) y 4 hombres (18%) Figura- 2.



De un total de 22 pacientes en el grupo de Metformina, 12 se encuentran en Monoterapia (54%) y 10 (46%) se encuentran recibiendo además Glibenclamida como terapia complementaria. De un total de 23 pacientes en el grupo de Rosiglitazona 12 pacientes (52%) tienen monoterapia y 11 (48%) reciben además Glibenclamida. Figura-3.

El tiempo de evolución de la enfermedad en ambos grupos es muy similar 8.59 ± 1.6 años para el grupo de Metformina y 8.45 ± 1.4 años para Rosiglitazona ($p=0.95$). Figura -4.

La única variable demográfica que mostró significancia estadística fue la edad, siendo la media de 62.3 ± 9.8 años en el grupo de Metformina Vs 55.04 ± 8.7 años en el grupo de Rosiglitazona ($p=0.01$). Figura-5.

Figura- 3 Distribución del tratamiento por grupos

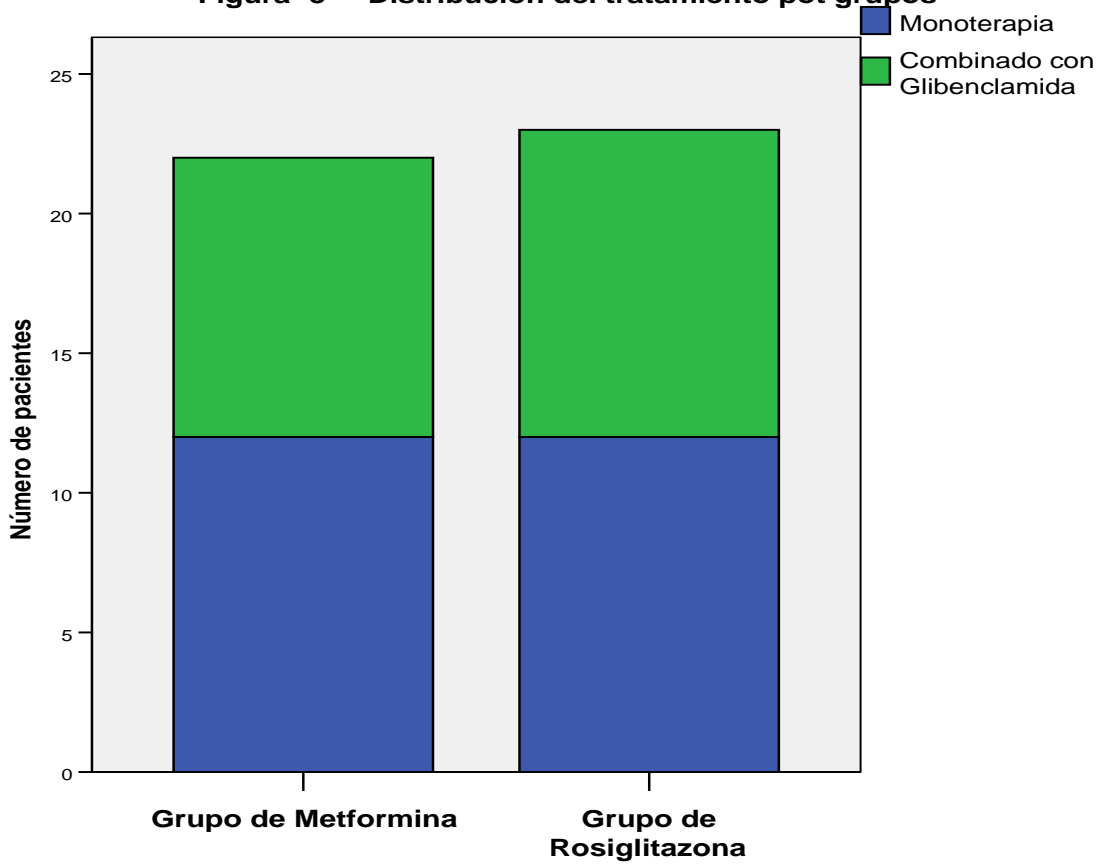


Figura 4 Tiempo de evolución desde el diagnóstico de diabetes

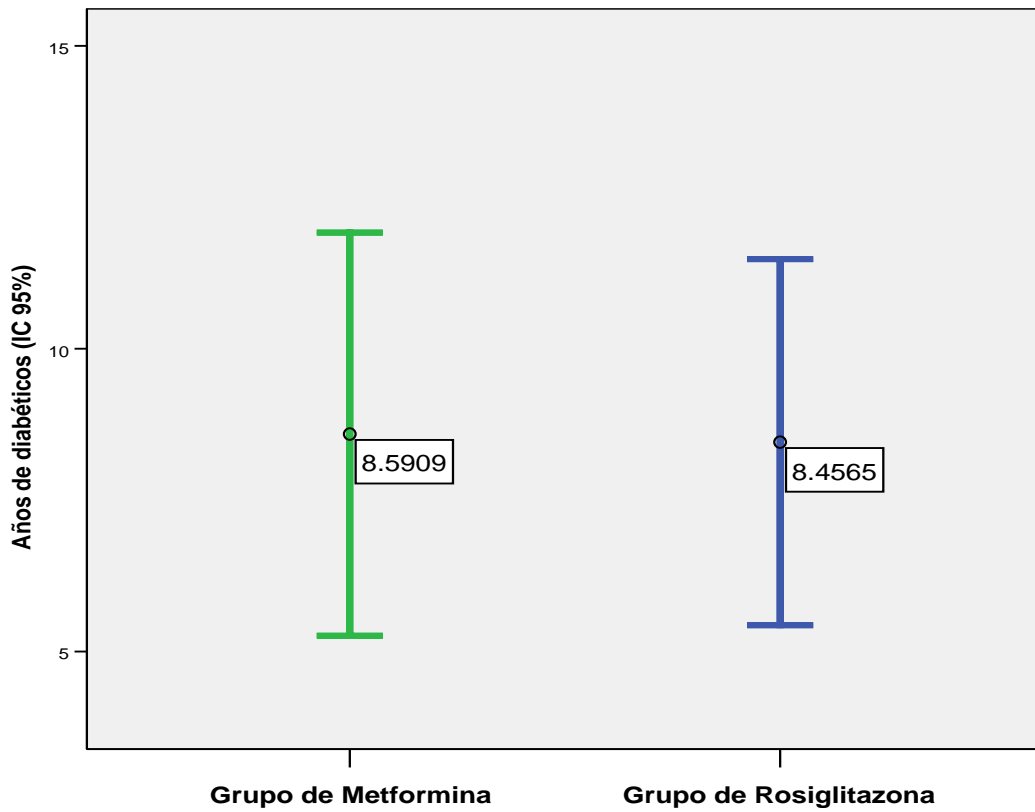
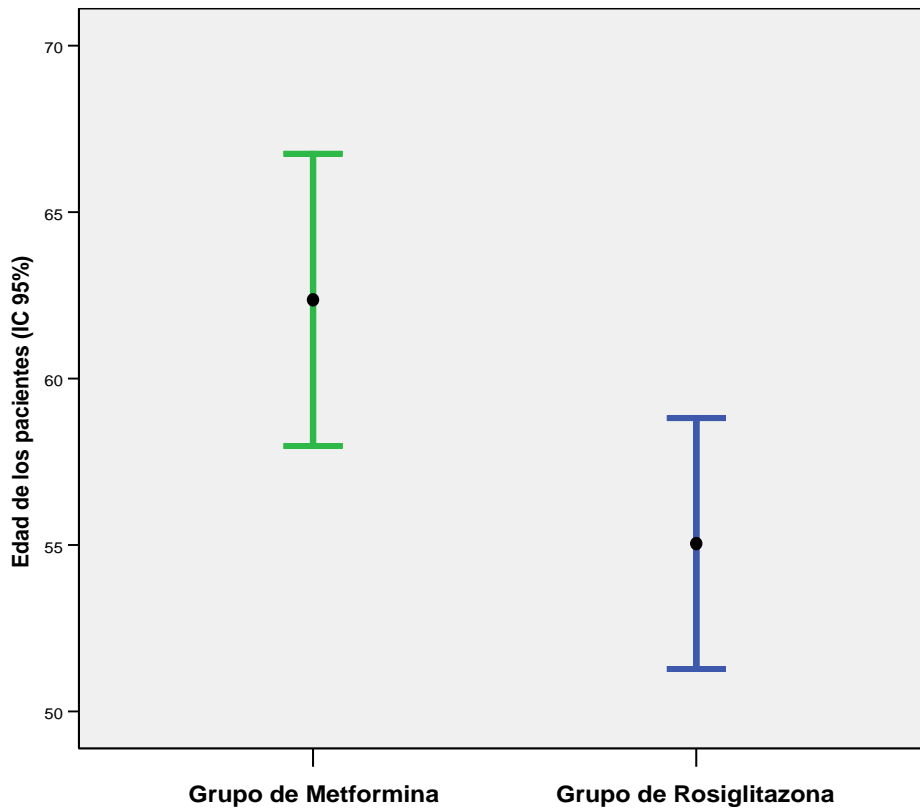
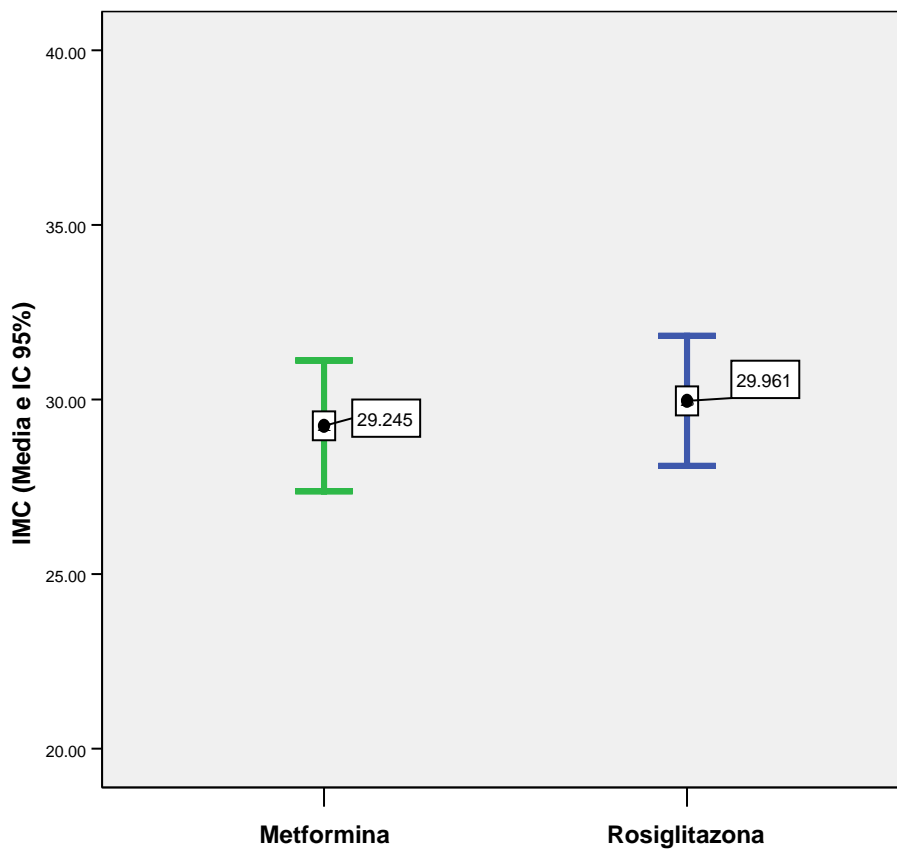


Figura- 5. Edad de los pacientes en ambos grupos de estudio



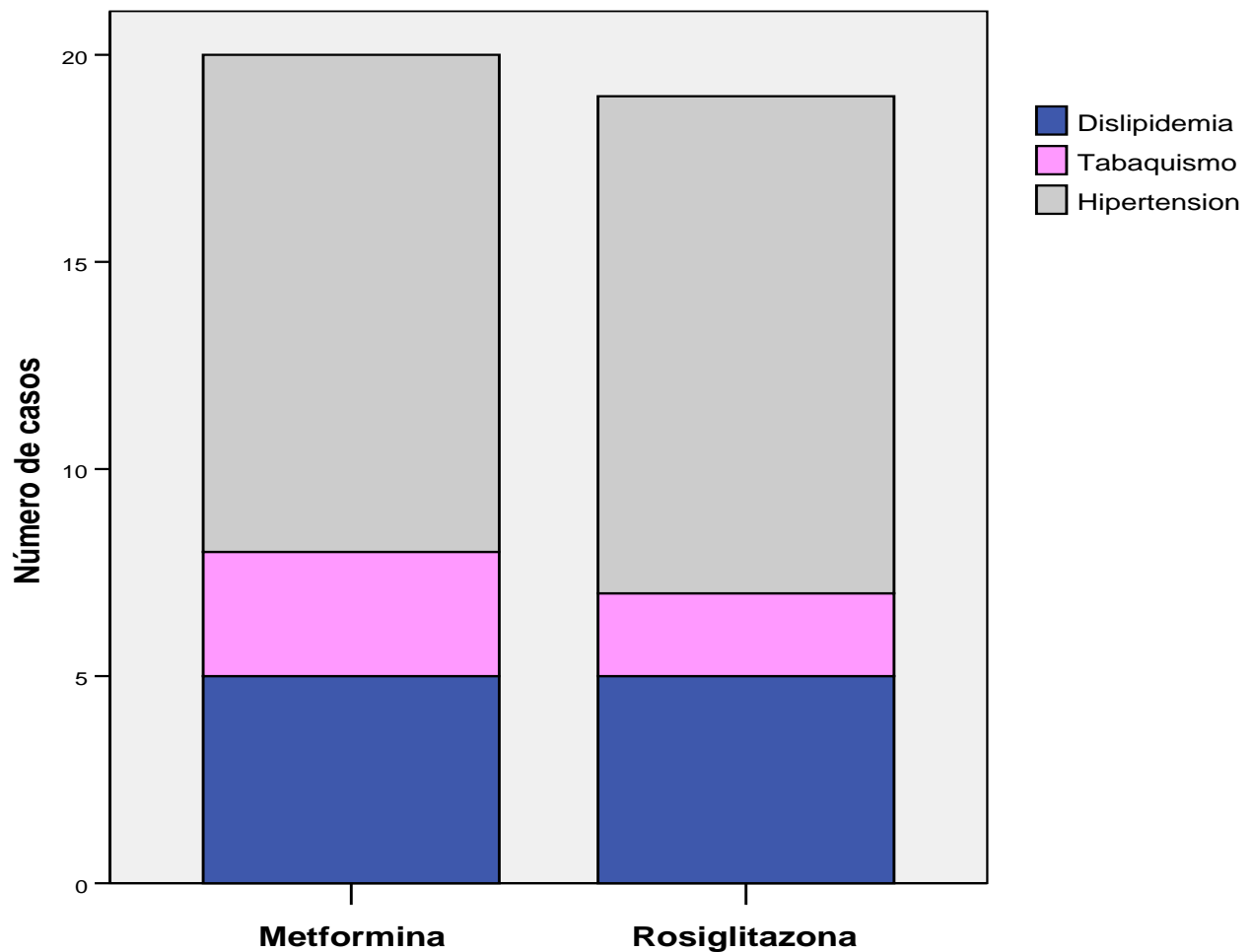
El índice de masa corporal en ambos grupos fue similar: $29.24 \pm 4.2 \text{ kg/m}^2$ para Metformina Vs $29.96 \pm 4.3 \text{ kg/m}^2$ para Rosiglitazona ($p=0.57$).

Figura- 6. Índice de Masa Corporal de los grupos de estudio



En cuanto a comorbilidades, existen 12 pacientes en cada grupo con hipertensión arterial esencial (54% en Metformin Vs 52% en Rosiglitazona $p=>0.05$), y 5 pacientes en cada grupo con Dislipidemia (22% Vs 21% $p=>0.05$). Respecto a la exposición a tabaco, hay 3 pacientes (13%) con tabaquismo activo y ninguno con historia previa de tabaquismo en el brazo de Metformina Vs cero pacientes con tabaquismo activo pero 2 pacientes (8%) con antecedente previo de tabaquismo ($p>0.05$) en el brazo de Rosiglitazona. Figura-7.

Figura - 7. Comorbilidades en cada uno de los grupos



La glucosa en ayuno no difirió significativamente en ninguno de los dos grupos, siendo al inicio del estudio de 176 ± 18 mg/dL para Metformina y de 184 ± 13 para Rosiglitazona.

El seguimiento promedio hasta este momento de 10 semanas, y se tiene proyectado continuarlo hasta el tiempo fijado al inicio del protocolo de 12 semanas.

Durante el desarrollo del proyecto, en la fase de asignación tuvimos 6 pérdidas en el grupo de Metformin Vs 3 pérdidas en el grupo de Rosiglitazona. En la fase de seguimiento sufrimos de 4 perdidas adicionales en el grupo de Metformin y 7 pérdidas en el grupo de Rosiglitazona. La gran mayoría de las pérdidas se debieron a una poca colaboración de los paciente para realizar los trámites administrativos para poder recibir consulta en el Hospital de Especialidades y para acudir a sus citas mensuales.

PUNTO FINAL PRIMARIO

Expresión de CD40L en la membrana plaquetaria

Se realizó un análisis preliminar para evaluar el efecto a un mes de tratamiento en 12 pacientes en el grupo de Metformin (7 en Monoterapia y 5 en terapia combinada con Glibenclamida) y 14 pacientes en el grupo de Rosiglitazona (7 en Monoterapia y 7 en terapia combinada con Rosiglitazona).

La cantidad media de ligando CD40L expresado en la membrana plaquetaria, medido como unidades de fluorescencia total (UFT) al inicio del estudio, fue mayor en el grupo de Metformin que en el de Rosiglitazona aunque estadísticamente no hubo diferencia: 4287 Vs 6304 $p= 0.54$

Figura-8.

Luego de un mes de tratamiento con la Rosiglitazona y a pesar de que de manera inicial se encontraba mayor cantidad de ligando CD40 plaquetario en el grupo de Rosiglitazona, se pudo observar un descenso considerable en el grupo de tratamiento, con una disminución de 1,755 UFT, (descenso de 27%) encontrando ahora una menor cantidad de moléculas expresadas en el grupo de estudio que en el grupo control: 8986 UFT para Metformin Vs 4549 UFT para Rosiglitazona ($p= 0.2$) sin embargo, a un mes de tratamiento aún no es posible alcanzar la significancia estadística (Fig-9).

Figura-8 Expresión basal de CD40L en la membrana plaquetaria (Unidades de Fluorescencia Total)

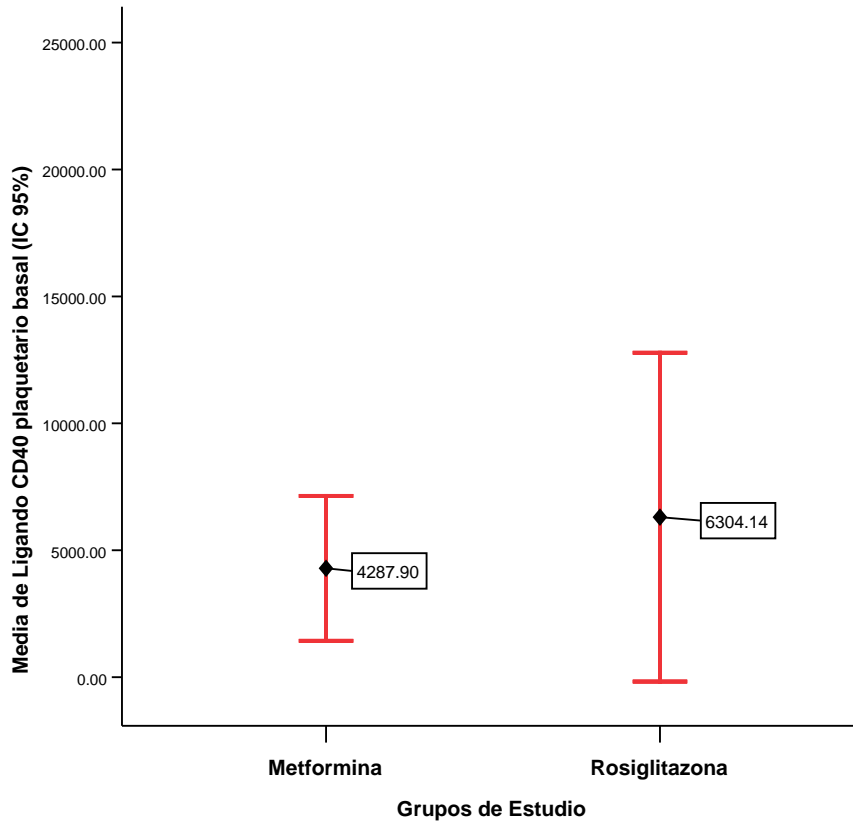


Figura-9 Expresión de CD40L en la membrana plaquetaria posterior a un mes de tratamiento (Unidades de Fluorescencia total)

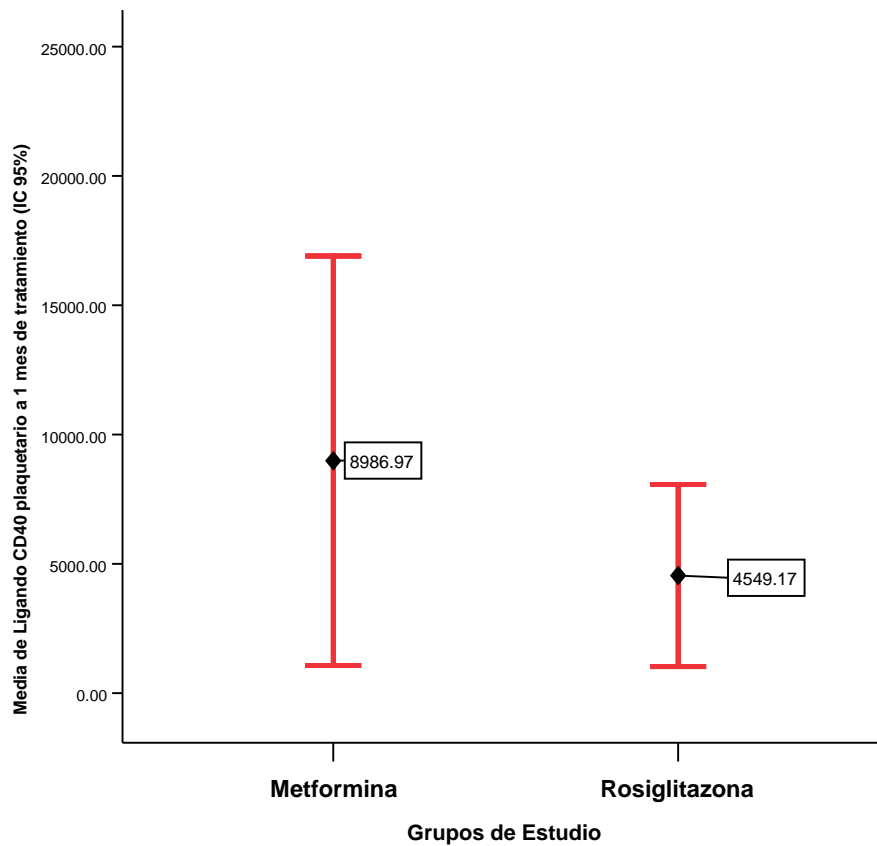


Figura- 10 Expresión de CD40L en la membrana plaquetaria antes y después de un mes de tratamiento con Rosiglitazona

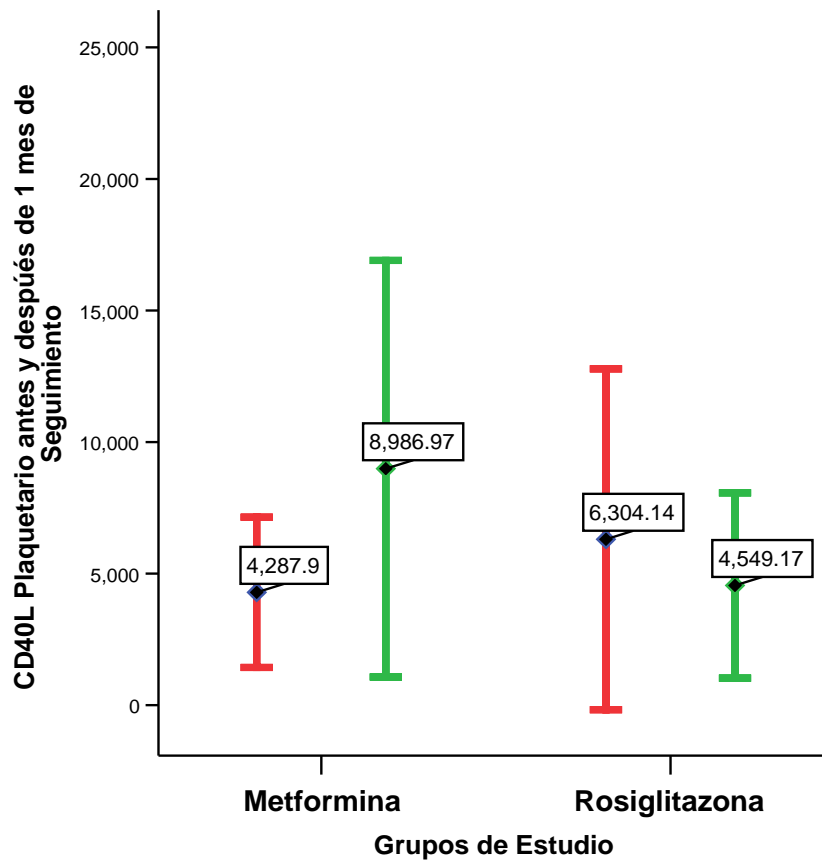
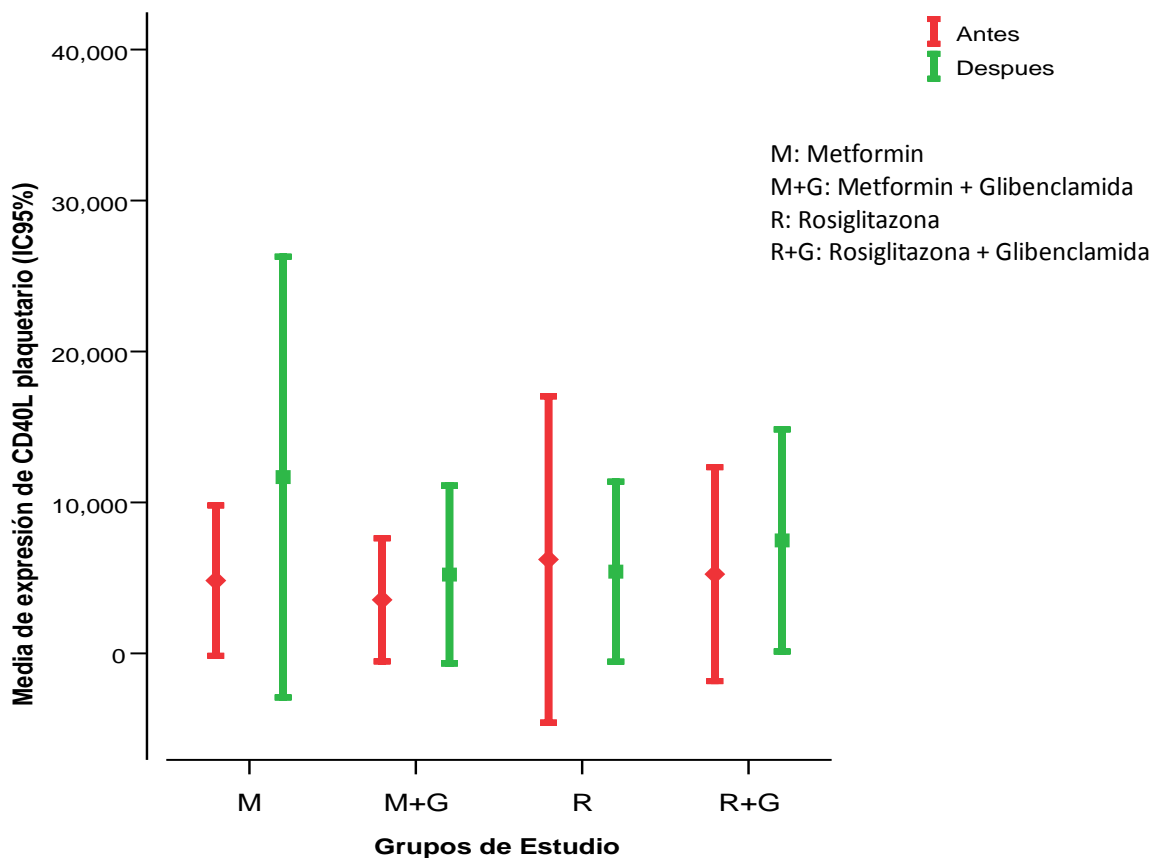
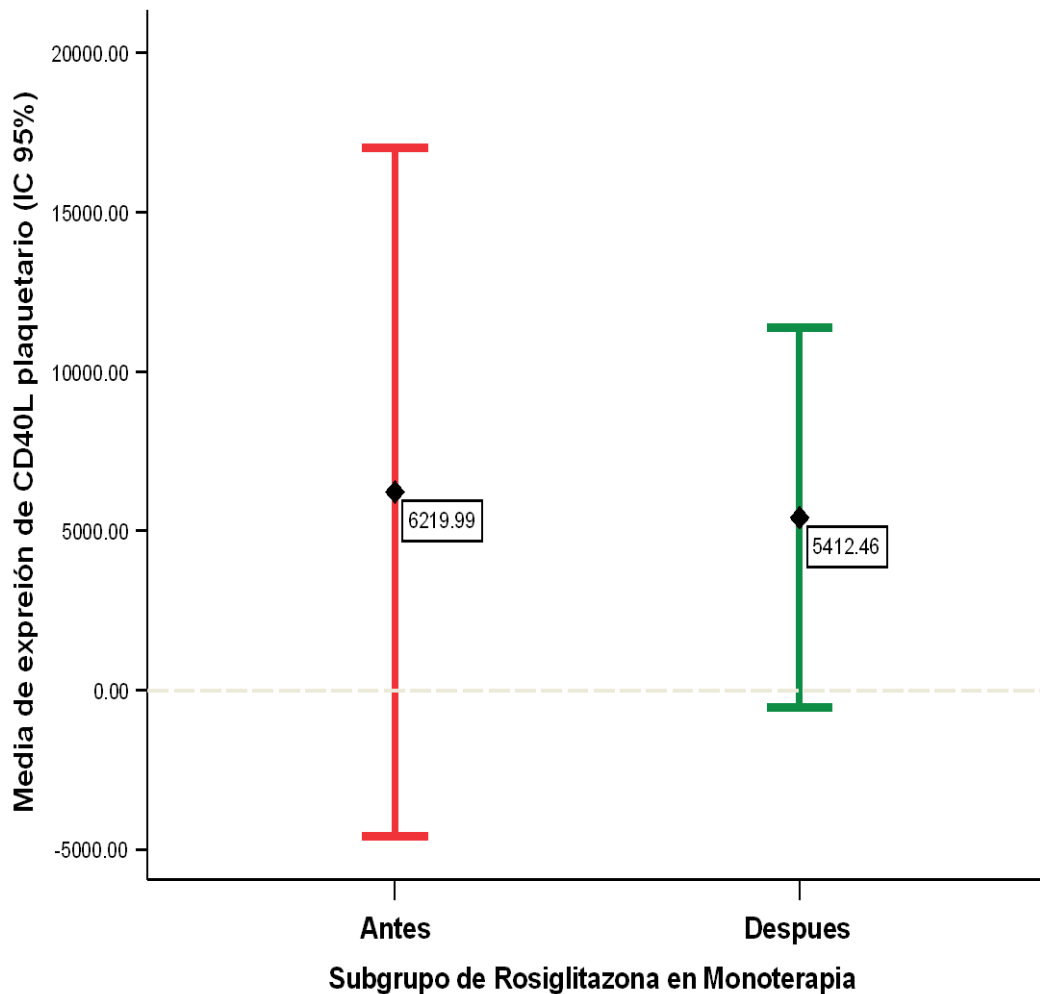


Figura-11 Expresión de CD40L en la membrana plaquetaria antes y después de un mes de tratamiento con Rosiglitazona en los cuatro subgrupos



Cuando realizamos el análisis por subgrupos observamos que el grupo donde hubo mayor impacto fue el grupo de Rosiglitazona en monoterapia donde la expresión de CD40L plaquetario antes del tratamiento fue de 6219.99 ± 11684 UFT y posterior a un mes de tratamiento se redujo a 5412 ± 6454 UFT.

Figura -12 Expresión de CD40L en la superficie de la membrana plaquetaria en el subgrupo de Rosiglitazona como monoterapia



De hecho al analizar el subgrupo de Rosiglitazona combinado con Glibenclamida no se encontraron reducciones en la expresión del ligando CD40L plaquetario, lo que hace pensar que este efecto potencialmente benéfico solo se produce cuando se da el tratamiento como monoterapia: 5245 ± 7660 UFT antes del tratamiento Vs 7480 ± 7954 UFT posterior al tratamiento.

DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos en ensayos clínicos a gran escala en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 realizados hace décadas, como el UKPDS así como en fechas recientes los grandes ensayos ACCORD y ADVANCE nos dejan una clara lección: independientemente del buen control metabólico logrado con los esquemas de tratamiento, el paciente diabético continúa teniendo una elevada mortalidad cardiovascular y no hemos logrado reducir las complicaciones macrovasculares en este grupo de pacientes.

Este es el primer estudio donde se evalúa directamente el efecto de los agonistas del receptor PPAR γ sobre la expresión de esta molécula en las plaquetas. Esto lo realizamos principalmente con la finalidad de encontrar una terapia que represente un beneficio adicional al reducir el riesgo de sufrir un evento cardiovascular en esta población de elevado riesgo.

Hasta este momento hemos encontrado que la Rosiglitazona en monoterapia si muestra una reducción sustancial en la expresión del ligando CD40L en la superficie de la membrana plaquetaria, medida por unidades de fluorescencia total por citometría de flujo, lo cual representa una evidencia de que con este grupo de medicamentos es posible atenuar la activación plaquetaria vía Ligando CD40 en pacientes diabéticos, y con esto, teóricamente se reduciría el proceso de inflamación en el endotelio y la progresión de la aterosclerosis.

Un hallazgo peculiar e inesperado fue que el añadir un secretagogo como la Glibenclamida al tratamiento con Rosiglitazona , anula el efecto sobre la expresión del CD40L plaquetario, sugiriendo que el beneficio de bloquear la activación plaquetaria vía CD40L solo se produce cuando se prescribe como monoterapia. Sin embargo, hasta la fecha no se ha evaluado si la Glibenclamida puede modificar la expresión del CD40L en la plaqueta, para lo cual se requieren estudios adicionales tanto in vitro como en pacientes diabéticos.

Nuestros resultados concuerdan con los hallazgos encontrados por el Dr. Marx y cols. quienes fueron los primeros en demostrar que la Rosiglitazona puede disminuir las concentraciones solubles del ligando CD40 plaquetario. No obstante, el estudio del Dr. Marx tiene algunas limitantes: en primer lugar sólo se investigó la fracción soluble de esta molécula, sin evaluar específicamente la superficie externa de la membrana plaquetaria, lo cual es fundamental debido

a que esta célula es la que interactúa directamente con las células endoteliales para desencadenar su activación y expresión de moléculas de adhesión. En segundo lugar, la plaqueta no es la única fuente de sCD40L, y esa reducción en las fracciones solubles puede representar un efecto en otras fuentes celulares de sCD40L, lo cual nos obliga a investigar directamente el impacto en la membrana celular de las plaquetas. Por último, en este estudio, los esquemas de tratamiento fueron muy distintos en los pacientes estudiados, siendo esto una variable confusora no controlada. Nuestro diseño de estudio, en cambio, nos permite evaluar el efecto con el medicamento sobre la membrana de la plaqueta, corroborando que los agonistas PPAR γ reducen la activación plaquetaria vía CD40L, además nos permite evaluar el efecto del medicamento como monoterapia y en combinación con un secretagogo como lo es la Glibenclamida, lo cual es de suma importancia debido a que son combinaciones ampliamente utilizadas.

Nuestra investigación es un estudio de tipo explicativo, por lo tanto sólo evaluamos un reducido número de pacientes, lo cual estaba acorde con nuestros objetivos, sin embargo hace falta evaluar este efecto de la Rosiglitazona en un ensayo a gran escala.

Por otra parte, debido a que el trámite administrativo para poder recibir atención médica en un hospital de tercer nivel fue considerado como excesivo por algunos de los pacientes, esto provocó que una cantidad mayor a la esperada abandonara el estudio antes de su finalización, sin embargo, las causas de abandono en ningún paciente obedecieron a razones directamente relacionadas con el protocolo de estudio.

Finalmente el seguimiento que nos propusimos realizar a los pacientes fue breve, debido a que en ese tiempo era suficiente para poder demostrar el efecto que buscábamos con el medicamento, no obstante esto no nos permite concluir si esta reducción en la activación plaquetaria vía CD40L se traducirá en un menor número de eventos cardiovasculares, con los que se hace evidente la necesidad de un estudio con un seguimiento prolongado encaminado a evaluar desenlaces clínicos.

CONCLUSIONES.

El tratamiento con Rosiglitazona como monoterapia reduce la expresión del ligando CD40L plaquetario, reduciendo así la activación de la plaqueta vía CD40L. Este efecto sobre el CD40L plaquetario no se observa en combinación con la Glibenclamida.

El tratamiento con Metformin no muestra impacto sobre la expresión del ligando CD40L plaquetario

Es necesario investigar el efecto de la Glibenclamida de manera individual sobre la expresión de esta molécula para poder determinar el porque cuando se añade este medicamento a la Rosiglitazona, el efecto benéfico se ve anulado.

Una vez más, se pone de manifiesto, que los medicamentos antidiabéticos tienen un efecto determinante en algunas de las vías que conducen a la trombosis, lo cual enfatiza la importancia de estudiar a fondo todos los efectos relacionados con el consumo del medicamento y no solamente su impacto sobre las concentraciones de glucosa.

No nos cabe duda, que las estrategias futuras en el paciente diabético irán encaminadas no solo a lograr un buen control metabólico sino a reducir el riesgo cardiovascular. Nuestros hallazgos pueden aportar nuevo conocimiento al respecto, ya que representa el primer antecedente del efecto de un agonista de PPAR γ sobre la expresión de una molécula clave en el proceso de la aterosclerosis en la membrana plasmática de una célula de importancia crítica en el proceso de trombosis.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- McCarthy D, Simmet P. **Diabetes 1994 to 2010: global estimates and projections.**
Melbourne: International Diabetes Institute;
- 2.- Encuesta nacional de salud 2000 www.insp.mx/ensa2000
- 3.- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 www.insp.mx/ensanut/ensanut2006
4. - Goldman, Lee. Cecil MEDICINE. 2007 33^a. Saunders Elsevier. Philadelphia
- 5.- N Engl J Med 2003;349:60-72
- 6.- Göran K. Hansson, M.D., Ph.D. **Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease.** N Engl J Med 2006;352(16):1685-95
- 7.- Burton E. Sobel, MD. **Optimizing Cardiovascular Outcomes in Diabetes Mellitus.** *AJM* 2007;120(9B):S3-S11
- 8.- Braunwald E: **Cardiovascular medicine at the turn of the millennium: Triumphs, concerns, and opportunities.** *New Engl J Med.* 1997; 337:1360-1369
- 9.- Mukamal KJ, Nesto RW, Cohen MC, et al: **Impact of diabetes on long-term survival after acute myocardial infarction: Comparability of risk with prior myocardial infarction.** *Diabetes Care* 2001; 24:1422.
- 10.- Fang J, Alderman MH: **Impact of the increasing burden of diabetes on acute myocardial infarction in New York City.** *Diabetes* 2006; 55:768
- 11.- Moreno PR, Murcia AM, Palacios AF, et al: **Coronary composition and macrophage infiltration in atherectomy specimens from patients with diabetes mellitus.** *Circulation* 2000; 102:2180
- 12.- Colwell JA, Nesto RW: **The platelet in diabetes: Focus on prevention of ischemic events.** *Diabetes Care* 2003; 26:2181
- 13.- Nichols GA, Hillier TA, Erbey JR, et al: **Congestive heart failure in type 2 diabetes: Prevalence, incidence, and risk factors.** *Diabetes Care* 2001; 24:1614

- 14.- Braunwald, E. et al. **BRAUNWALD'S Heart Disease** 8a ed. 2007. El Sevier. Philadelphia
- 15.- Adkinson, F. et al. **Middleton's Allergy: Principles and Practice**, 6a ed. 2003. Mosby, Inc. Philadelphia
- 16.- Stefan, B et al. **Circulating Cell Adhesion Molecules and Death in Patients With Coronary Artery Disease.** *Circulation.* 2001;104:1336-1342
- 17.- Iqbal Malik et al. **Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis.** *Lancet* 2001; 358: 971–75
- 18.- Hoffman, R. et al. **Hematology: basic Principles and Practice.**4^a Ed.2005. El Sevier. Philadelphia
- 19.- Jane E. Freedman **CD40-CD40L and platelet Function.** *Circ Res.* 2003;92:944-946
- 20.- Jamie J. O'Brien, Denise M. Ray, Sherry L. Spinelli, et al. **The platelet as a therapeutic target for treating vascular diseases and the role of eicosanoid and synthetic PPAR γ ligands** *Prostaglandins & other Lipid Mediators.* 2007; 82: 68–76
- 21.- Uwe Schönbeck, PhD, **CD40 Signaling and Plaque Instability.** *Circ. Res.* 2001;89:1092-1103
- 22.- Armitage, RJ. Et al. Molecular and biological characterization of a murine ligand for CD40. *Nature.* 1992;357:80-82
- 23.- Cocks BG, et al. IL-13 induces proliferation and differentiation of human B cells active by CD40 ligand. *Int Immunol.* 1993;5:657-663
- 24.- Mach F, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1931-1936

- 25.- Volker Henn, Joseph R. Slupsky, Michael Gräfe **CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells** *Nature* 1998; 391: 591-594
- 26.- Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW et al. **Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes.** *N Engl J Med* 2003;348:1104-1111
- 27.- Uwe Schönbeck, PhD, Nerea Varo, PhD, Peter Libby, MD, et al. **Soluble CD40L and cardiovascular Risk in Women** *Circulation*. 2001;104:2266-2268
- 28.- Hannele Yki-Järvinen, M.D., F.R.C.P. **Thiazolidinediones.** *N Engl J Med* 2004;351:1106-18
- 29.- Kristina Schoonjans, Johan Auwerx **Thiazolidinediones: an update** *Lancet* 2000; 355: 1008–10
- 30.- Berger, J.; Moller,D. The Mechanism of Action of PPARs. *Annu. Rev. Med.* 2002;53:409-35
- 31.- Beckman, J. et al. Peroxisome proliferator active receptor gamma and its activation in the treatment of insulin resistance and atherosclerosis: issues and opportunities. *Curr Opin Cardiol* 2003, 18:479-485
- 32.- Steven E. Nissen, M.D., Kathy Wolski. Effect of Rosiglitazone on the Risk of Myocardial Infraction and Death from Cardiovascular Causes. *N Engl J Med* 2007;356:2457-71
- 33.- Diamond, G. et al. Uncertain Effects of Rosiglitazone on the Risk for Myocardial Infraction and Cardiovascular Detah. *Ann Int Med* 2007;147(8):checar página
- 34.- Friedrich, J. Inclusion of zero total events trials in meta-analyses maintains analytic consistency and incorporates all available data. *Medical Research Methodology* 2007;7:5

- 35.- Philip D. Home, et al. Rosiglitazone Evaluated for Cardiovascular Outcomes-An Interim Analysis. *N Engl J Med* 2007;357: 28-38
- 36.- Clifford J. Rosen. The Rosiglitazone Story-Lessons from an FDA Advisory Committee Meeting. *N Engl J Med* 2007;357:1-3
- 37.- Akbiyik F, Ray DM, Gettings KF, et al. **Human bone marrow megakaryocytes and platelets express PPAR γ , and PPAR γ agonists blunt platelet release of CD40 ligand and thromboxanes.** *Blood* 2004;104:1361.
- 38.- Nikolaus Marx, MD et al. **Effect of Rosiglitazone Treatment on Soluble CD40L in Patients With Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease.** *Circulation* 2003;107:1954-1957

ANEXOS.

ANEXO. 1.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORME AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO: “EFECTO DE LA ROSIGLITAZONA SOBRE EL LIGANDO CD40 PLAQUETARIO, CD40 SOLUBLE Y MOLECULAS DE ADHESION ENDOTELIALES ICAM-1 Y VCAM-1 EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS-2”

PROTOCOLO No: **R-2007-3501-88**

INVESTIGADORES: Dr. Maximiliano García de la Peña

Dr. Moises Casarrubias Ramírez

TELEFONO: 53 92 53 72

CENTRO: Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza

Antes de que usted decida tomar parte en este estudio de investigación, es importante que lea, cuidadosamente, este documento. Su médico discutirá con usted el contenido de este informe, y le explicará todos aquellos puntos en los que tenga dudas. Si después de haber leído toda la información usted decide participar en este estudio, deberá firmar este consentimiento en el lugar indicado y devolverlo a su médico. Usted recibirá una copia de este consentimiento informado.

Objetivos del estudio

A usted se le ha pedido que participe en un estudio de investigación de un fármaco utilizado en diabetes. Este estudio tiene el objetivo de evaluar el fármaco en la disminución de la aterosclerosis en el paciente diabético, de tal forma que pueda disminuir el riesgo de eventos cardiovasculares.

Procedimiento a seguir

Si usted acepta participar en este estudio se le realizará un examen físico y unos estudios de laboratorio. Se le tomarán muestras de sangre al inicio del estudio, a las 6 y 12 semanas, usted tomará este medicamento en conjunto con su tratamiento estándar. La duración del tratamiento es de 12 semanas, durante los cuales usted acudirá a cita en el consultorio con su médico los siguientes días.

Día 1 (antes del tratamiento), semana 4, semana 8 y semana 12.

Es importante que usted no pierda estas citas

En cada visita usted será examinado (a) por su médico y se tomarán muestras de sangre en ayuno en cada visita que realice. En cada visita usted le deberá mostrar el medicamento a su médico, y deberá contarle de los síntomas que presente durante el tratamiento. Es muy importante que usted tome todos sus medicamentos según se le ha indicado. Usted recibirá toda su medicación del estudio. Continuará tomándola en la misma forma por un total de 12 semanas.

En caso de que usted necesitara ser visto por otro médico, es importante que el/ella sepa que usted está participando en un estudio de investigación. A usted se le entregará una tarjeta que dice que usted es un participante de un estudio de investigación, la tarjeta tiene el número de teléfono donde puede ser localizado su médico, usted deberá llevar esta tarjeta todo el tiempo y devolverla al final del estudio al médico encargado. Su médico del estudio deberá saber si usted consultó con otro médico.

Experiencia anterior con el medicamento

Este medicamento ha sido probado en miles de sujetos que tienen diabetes mellitus tipo 2 para el control de la misma, los efectos adversos que puede provocar son: náusea, vómito, debilidad, alteración de la función hepática. Existen datos conflictivos de que puede asociarse a riesgo cardiovascular. Puede ser que aún no se hayan reportado algunos efectos adversos.

Tratamiento alternativo

Es importante que sepa que no es necesaria su participación en el estudio para el control de su enfermedad.

Exclusiones

Si usted cuenta con algunas de estas condiciones no podrá participar en el estudio:

- En tratamiento con alguna tiazolidinadiona (pioglitazona, troglitazona, rosiglitazona)
- En tratamiento con alguna estatina (pravastatina, atorvastatina, simvastatina, etc)
- Angina inestable o infarto del miocardio durante las 4 semanas previas
- Daño en la función hepática (elevación de enzimas hepáticas de mas de 2 veces su valor normal, incluyendo bilirrubinas)
- Tratamiento actual con insulina
- Insuficiencia renal que requiera hemodiálisis
- Neoplasias
- Enfermedad Inflamatoria Sistémica
- Cirugía mayor reciente en las 2 semanas previas
- Insuficiencia Cardíaca Conhectiva Clase Funcional III o IV de la NYHA

Beneficios para los participantes

Su condición de salud puede mejorar como resultado de su participación en este estudio.

Sin embargo no hay ninguna garantía de que usted reciba algún beneficio médico por dicha participación

Remuneración por su participación en el estudio

Usted recibirá los medicamentos y se le harán los exámenes del estudio, sin costo alguno de su parte. No existe ninguna remuneración económica por su participación en este estudio.

Compensación en caso de lesión

Si usted sufriera una lesión como consecuencia de los medicamentos o procedimientos de este estudio, el médico: Dr. Maximiliano García de la Peña, investigador principal, le brindará la atención médica que necesite, el costo de este cuidado será cubierto por el hospital de especialidades del CMN La Raza.

Confidencialidad

A menos que la ley lo exija, solo el investigador y colaboradores tendrán acceso a los datos confidenciales que lo identifican a usted por su nombre, su identificación no aparecerá en ningún informe ni publicación resultante del presente estudio.

Nuevos hallazgos

Se le informará sobre cualquier nuevo hallazgo importante que se documente durante el estudio que pudiera afectar su voluntad de continuar participando en el.

Contactos

El investigador o la persona que el designe ha contestado todas sus preguntas. Si usted tiene preguntas adicionales durante el estudio acerca de la investigación o de sus derechos como sujeto de investigación, puede dirigirse a: Dr. Adolfo René Méndez Cruz en el 5° piso del HG CMN La Raza. En caso de lesión relacionada con la investigación o de cualquier otro problema, sírvase comunicarse con Dr. Maximiliano García de la Peña al teléfono 53 92 53 72

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a participar o puede interrumpir su participación en cualquier momento durante el estudio, sin perjuicio alguno ni pérdida de sus derechos. Si decide interrumpir su participación, puede recibir el resto de su tratamiento sin perjuicio alguno de su tratamiento médico o de participación en estudios futuros. Además, el investigador puede dar por terminada su

participación, independiente de su consentimiento, si usted requiere medicamentos no permitidos ha violado el protocolo de estudio.

Consentimiento

He leído y entendido este consentimiento informado. He recibido respuesta a todas mis preguntas. Acepto voluntariamente participar en este estudio.

Al firmar esta fórmula no estoy renunciando a mis derechos legales que de todas maneras tengo como participante en un estudio de investigación

_____	_____	_____
Nombre del participante	Firma	Fecha
_____	_____	_____
Nombre del testigo	Firma	Fecha
_____	_____	_____
Nombre del investigador	Firma	Fecha

ANÁLISIS DE DATOS.

Tamaño de la muestra

Se realizó el cálculo de tamaño de la muestra mediante la fórmula de diferencia de proporciones para variable cualitativa. Debido a que en el único trabajo donde se observa el efecto de la Rosiglitazona sobre el sCD40L los datos aportados no permiten obtener varianza, ni se expresan las cifras absolutas de las concentraciones séricas del mismo, únicamente se describe el porcentaje de descenso en los pacientes tratados. Con esta fórmula el número necesario a estudiar en cada uno de los grupos es de 19.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con la estrategia de intención de tratamiento. Se utilizó además las siguientes pruebas estadísticas.

- Análisis descriptivo. Distribución de frecuencias, media y desviaciones estándar de acuerdo a la escala de medición de las variables
- Análisis bivariado. Prueba de t para grupos independientes para comparar las concentraciones séricas de CD40L soluble, CD40L plaquetario, ICAM-1 y VCAM-1 antes y después del tratamiento experimental entre ambos grupos.