



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
DELEGACIÓN SURESTE DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CMN SIGLO XXI**



TITULO:

Correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias con aparición de proteinuria en población Mexicana con Diabetes Mellitus.

**Tesis para Obtener el Grado de Especialista en
Nefrología**

Parte del Proyecto “Estudio de Variantes del número de copia (CNVs) en el genoma de pacientes con Diabetes Tipo 2 y su implicación en las complicaciones más frecuentes” con No. REGISTRO: 2008-785-073, FIS/IMSS/PROT/635. Anexo 1

PRESENTA:

DR. ROGELIO IVAN SILVA RUEDA.

ASESORES:

**DRA. DOMINGA JIMÉNEZ GUZMÁN.
DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ.
DR. IVAN DE JESUS ASCENCIO MONTIEL**



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.

Dra. Diana G. Menez Díaz.

Jefe de la División de Educación e Investigación en Salud
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Pedro Trinidad Ramos.

Profesor Titular del Curso de Nefrología.
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dra. Dominga Jimenez Guzmán.

Asesor de Tesis.
Médico Adscrito al Servicio de Nefrología
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Miguel Cruz López

Asesor de Tesis.
Jefe de la UIM en Bioquímica
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Iván de Jesús Ascencio Montiel

Asesor Metodológico.
UIM en Bioquímica
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Rogelio Ivan Silva Rueda

Investigador Principal.
U.M.A.E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepúlveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
U.M.A.E. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DR. BERNARDO SEPÚLVEDA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
U.I.M. EN BIOQUÍMICA

Miércoles, 22 de junio de 2011

DR. ADOLFO CHAVEZ NEGRETE.
JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION
EN SALUD.

Me dirijo usted para solicitar de la manera más atenta su aprobación para que el **Dr. Rogelio Ivan Silva Rueda**, residente 5° año de Nefrología, realice su **Tesis de Especialidad** durante un año.

La Tesis a desarrollar tiene como Título: "**Correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias con aparición de proteinuria en población Mexicana con Diabetes Mellitus**", que formara parte del proyecto "Estudio de Variantes del Número de copia (CNVs) en el Genoma de pacientes con Diabetes Tipo2 y su Implicación en las Complicaciones mas Frecuentes". N° Registro 2008-785-073, FIS/IMSS/PROT/635.

Sin más por el momento, aprovecho para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Miguel Cruz López
Jefe, UIM en Bioquímica
Email mcruzl@yahoo.com
Tel 57612358



Instituto Mexicano del Seguro Social
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
U.I.M. EN BIOQUÍMICA

IMSS

MCL/enr

AGRADECIMIENTOS

A DIOS.

Por el Don de la Vida.

MIS PADRES, MIS HERMANAS Y MI HERMANO.

Por el apoyo en todo momento en este largo camino.

A SHANTAL ARLAE AVILÉS ROMERO

Por el Amor, la Tolerancia y el Apoyo.

A MIS AMIGOS

Carlos Waldo, Germain Toledo por brindarme el apoyo en los momentos difíciles.

A MIS COMPAÑEROS.

Patricia, Ramiro, Linda, Oliver, Fabiola, Maricela y Laura, por compartir estos años tan importantes en mi vida profesional.

A LA DRA. DOMINGA JIMÉNEZ GUZMÁN

Por brindarme su confianza y asesoría para la realización de esta tesis.

AL DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ

Por la asesoría y confianza para ser parte de este gran proyecto.

AL DR. PEDRO TRINIDAD RAMOS.

Por ser Mediador y Maestro.

A LA DRA. BERTHA MARTÍNEZ HERNÁNDEZ

Por la confianza y el apoyo brindado durante mi residencia.

AL DR. IVAN DE JESÚS ASCENCIO MONTIEL

Por la asesoría para el análisis estadístico de mi tesis.

A LOS MÉDICOS DEL SERVICIO DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

Por la paciencia, el conocimiento y la asesoría durante toda mi residencia.

ÍNDICE.

	Página
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	3
III. MARCO TEÓRICO.....	4
IV. JUSTIFICACIÓN.....	24
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
VI. OBJETIVOS.....	26
VII. HIPÓTESIS.....	27
VIII. PACIENTES Y MÉTODOS	28
IX. DISEÑO DE ESTUDIO.....	28
X. CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	29
XI. DEFINICION DE VARIABLES.....	31
XII. ANÁLISIS ESTADISTICO.....	32
XIII. RESULTADOS	33
XIV. DISCUSIÓN.....	41
XV. CONCLUSIÓN.....	44
XVI. BIBLIOGRAFIA.....	45
XVII. ANEXOS.....	50

REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD.

Delegación: **Sur del Distrito Federal.** Unidad de Adscripción: **H.E. CMN SXXI, IMSS.**

Autor: Apellido Paterno: **Silva.** Apellido Materno: **Rueda.** Nombres **Rogelio Iván.**

Título de Tesis: Correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias con aparición de proteinuria en población Mexicana con Diabetes Mellitus.

RESUMEN.

Introducción. La DM es la causa más frecuente de ingreso a programas de diálisis en México. Se estima que 20 a 40% de los pacientes con DM desarrollan microalbuminuria después de 15 a 20 años de evolución. Una vez que se establece la proteinuria, la función renal disminuye progresivamente a razón de 10 a 12 ml/min por año, en pacientes no tratados. En México hay más de 500,000 diabéticos con proteinuria de los cuales 100 a 200,000 evolucionarán a insuficiencia renal en los próximos años.

Objetivo. Determinar si existe correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias (IL-6 e IL-10), adipocinas (Resistina) y moléculas de adhesión celular (VCAM, ICAM y E-selectina) con la presencia de microalbuminuria e Índice de Filtración Glomerular en pacientes mexicanos con Diabetes Mellitus tipo 2.

Pacientes y Métodos. Transversal analítico de correlación. Se incluyeron a pacientes que cumplieron criterios de la ADA para DMT2, usuarios de las Unidades de Medicina Familiar No. 1 y No. 22 en la Ciudad de México, en el período de Octubre de 2010 a Julio de 2011. Se les determinaron niveles de glucosa, hemoglobina glucosilada, urea y creatinina séricas, microalbuminuria, Índice de Filtrado Glomerular (mediante las Fórmulas MDRD, MDRD/IDMS, EPI, Crockcroft-Gault y Crockcroft-Gault/SC), niveles de IL-6, IL-10, VCAM-1, ICAM-1 y Resistina.

Resultados. De un total de 231 participantes, se incluyeron 189 pacientes con DMT2. El promedio de edad fue de 52.5 ± 0.4 años, el de tiempo de evolución de la DT2 fue de 6.7 ± 0.4 y el 34.4% de los pacientes fueron hombres. Los niveles de glucosa y HbA1c fueron superiores a los puntos de corte de control de 110mg/dL y 6.5% respectivamente (145.5 ± 5 y 7.5 ± 0.1). La media de creatinina fue de 0.86 ± 0.04 mg/dL, mientras que la albumina urinaria se encontró en 15.5 ± 3.1 mg/dL. La prevalencia de microalbuminuria (albúmina urinaria >30 mg/dL) para un Índice de filtración glomerular (IFG) <60 ml/min/ 1.73 m² calculado con la fórmula MDRD fue de 15.9% (IC95% 10.4%-21.3%). Se encontró una correlación baja entre los niveles de ICAM y los de microalbuminuria. Los pacientes con IFG <60 ml/min/ 1.73 m² presentaron niveles menores de VCAM (104 ± 3.5 vs 120 ± 2.9 , $p=0.001$) y mayores de ICAM (170.7 ± 17.8 vs 97.9 ± 6.7 , $p<0.001$) en comparación con aquellos con IFG ≥ 60 ml/min/ 1.73 m²

Conclusión. Existe correlación entre un incremento de los niveles séricos de ICAM-1 con los niveles de microalbuminuria. En los pacientes con un IFG ≤ 60 ml/min/ 1.73 m², se observan mayores concentraciones séricas de ICAM-1 y menores niveles de VCAM-1,

Palabras clave: **1) Microalbuminuria. 2) Diabetes Mellitus. 3) Citocinas inflamatorias. 4) Índice de Filtrado glomerular**

Paginas:

(Para ser llenado por el Jefe de Educación e Investigación Médica).

Tipo de Investigación: _____.

Tipo de Diseño: _____.

Tipo de Estudio: _____.

1. Datos del Alumno	
Apellido Paterno	Silva
Apellido Materno	Rueda
Nombres	Rogelio Iván
Teléfono	5515885441
Universidad	UNAM
Facultad	Facultad de Medicina
Especialidad	Nefrología
No. de Cuenta	506221574
2. Datos del Asesor	
Apellido Paterno	Jiménez
Apellido Materno	Guzmán
Nombres	Dominga
3. Datos de la Tesis	
Título	Correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias con aparición de proteinuria en población mexicana con Diabetes Mellitus.
No. Páginas	60 páginas.
Año	2011

INTRODUCCIÓN.

La prevalencia de insuficiencia renal crónica ha aumentado en la última década. El incremento en su mayoría está asociado con diabetes mellitus (DM) y en menor proporción con hipertensión arterial. La DM es la causa más frecuente de ingreso a programas de diálisis en México, Estados Unidos, Europa y Japón. De acuerdo a la última Encuesta de Salud realizada en México, la prevalencia de DM es de 10.7% de la población adulta (20-69 años) lo que representa un total de 5.3 millones. Se estima que 20 a 40% de los pacientes con DM desarrollan nefropatía incipiente (microalbuminuria) después de 15 a 20 años de evolución. De éstos, 20-40% desarrollan nefropatía (proteinuria > 0.3 g/d) en un período de 15-20 años desde el inicio de la DM y una vez que se establece la proteinuria, la función renal disminuye progresivamente a razón de 10 a 12 mL/min por año, en pacientes no tratados. La hipertensión y la proteinuria aceleran la progresión a la insuficiencia renal terminal. En México, 9.3% de los pacientes con DM tuvieron proteinuria y en pacientes con DM e hipertensión el 19% tenían proteinuria. Se puede estimar que en México hay más de 500,000 diabéticos con proteinuria de los cuales 100 a 200,000 evolucionarán a insuficiencia renal en los próximos años. El riesgo de desarrollar nefropatía es mayor en familiares de pacientes con nefropatía y puede ser hasta cerca de 50% cuando ambos padres la padecen. La posibilidad de nefropatía es mayor si el control de la glicemia es deficiente, especialmente si la hemoglobina glicosilada (A1c) es mayor de 11%. En pacientes con DM tipo 1, la hiperfiltración glomerular se asocia con riesgo de desarrollar proteinuria hasta 10 veces mayor que en pacientes con filtración normal. La asociación de hiperfiltración y nefropatía se ha atribuido a la hipertensión glomerular que determina el aumento en filtración. En los pacientes con diabetes tipo 2 (DT2) la hiperfiltración es menos aparente, probablemente por la coexistencia de aterosclerosis y lesión vascular renal¹⁻².

MARCO TEORICO.

Definición.

La nefropatía diabética (ND) se ha definido como la presencia de proteinuria persistente (excreción de proteínas totales en orina >500 mg/día, ó albuminuria >300mgs/día) en pacientes con diabetes que además tienen retinopatía diabética pero sin otra nefropatía. El término de nefropatía diabética se propuso inicialmente para designar las lesiones que podían encontrarse en el riñón del diabético, actualmente se utiliza exclusivamente para señalar las lesiones renales originadas por afección microangiopática o de los pequeños vasos. Se trata por ende de una complicación vascular crónica, exclusiva de la diabetes mellitus, en la que se afecta la microcirculación renal originando una serie de alteraciones funcionales y estructurales principalmente a nivel glomerular.³

ALTERACIONES ESTRUCTURALES

El glomérulo es una trama capilar de 0.2mm de diámetro situado en el espacio de Bowman y rodeado por una cápsula que se invagina en el sistema tubular. Varios de estos capilares se disponen alrededor del mesangio, que actúa de sostén en el centro de cada lobulillo. Las células mesangiales están separadas del epitelio por la membrana basal. La pared capilar está formada por el endotelio, compuesto por células endoteliales y perforado por ventanas o poros, la membrana basal es una lámina densa, rodeada de dos capas protectoras, cuya misión es actuar de barrera para las proteínas que penetran en el ultrafiltrado, y el epitelio, que se une a la membrana basal por medio de los podocitos.⁴ El engrosamiento de la membrana basal se inicia después de dos a cinco años de diabetes, y progresa lentamente hasta doblar su grosor en 10 a 20 años. El material de la membrana basal se acumula en la zona mesangial, afectando a los espacios vascular y

urinario. Además, en la membrana basal se producen depósitos de fibrina y otros agregados que estimularán la formación de matriz mesangial. Además de engrosarse se hace más permeable a proteínas y otras macromoléculas.⁵

PATRONES HISTOLÓGICOS

Glomeruloesclerosis difusa. Se caracteriza por engrosamiento difuso de la pared capilar y del mesangio. Son lesiones que se generalizan a todo el glomérulo y después a todo el riñón.

Glomeruloesclerosis nodular. Es una lesión típica de la nefropatía diabética. El glomérulo puede estar normal o aumentado, y en el centro de los lóbulos periféricos se aprecian nódulos aislados o múltiples.⁶

CLASIFICACIÓN DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA.

Se han desarrollado muchas clasificaciones de los estadios evolutivos de la nefropatía diabética. De todas ellas la más aceptada es de la Mongenssen destinada principalmente a pacientes con diabetes tipo 1, se distinguen 5 etapas, basada en el filtrado glomerular, grados de proteinuria (Cuadro 1) y cambios estructurales a nivel histológico.⁷

Cuadro 1.

CLASIFICACION DE LA PROTEINURIA.

Grados de proteinuria.	Niveles
Normoalbuminuria	0 a 30 mg/dL
Microalbuminuria	30 a 300 mg/dL
Macroalbuminuria o proteinuria	Más de 300 mg/dL
Proteinuria en rangos nefróticos	Igual o mayor a 3.5 gramos en 24 hrs.

Etapa I: Hipertrofia e hiperfiltración glomerular (HFG). La HFG y la nefromegalia coexisten con el inicio de la diabetes, pero son reversibles con el tratamiento insulínico intensivo o con un adecuado control metabólico, en semanas o meses. No se aprecian cambios estructurales.

Etapa II: Lesiones estructurales con Excreción Urinaria Normal de Albumina. Etapa silenciosa, se caracteriza por normoalbuminuria independientemente de la duración de la diabetes. Histológicamente se aprecia engrosamiento de la membrana basal y expansión del mesangio. En esta etapa el mal control glucémico como la HFG son necesarias para que se desarrolle nefropatía diabética.

Etapa III: Nefropatía diabética incipiente. Se caracteriza por microalbuminuria persistente, se desarrollan lesiones estructurales con filtrado glomerular conservado, aunque al final comienza a declinar. La microalbuminuria predice la nefropatía diabética, ya que un 80% de los pacientes la desarrollarán si no se interviene adecuadamente.

Etapa IV: Nefropatía diabética manifiesta. La nefropatía diabética establecida se caracteriza por proteinuria persistente en diabéticos de más de diez años de evolución con retinopatía asociada y ausencia de otras enfermedades renales de origen no diabético. Al principio de esta fase el filtrado glomerular es normal o alto con creatinina sérica normal, con el tiempo, si no se interviene, se va deteriorando a razón de 1mL/min/ mes. Esta caída del filtrado glomerular se correlaciona con el grado de oclusión glomerular y con el engrosamiento de la membrana basal. La hipertensión es frecuente en la nefropatía diabética establecida y aumenta con el tiempo que declina el filtrado glomerular, y su control estricto es fundamental para evitar la progresión de la nefropatía diabética. La

proteinuria es creciente, y cuando supera los 3g/día aparece el síndrome nefrótico con hipoalbuminemia, edema e hiperlipidemia. La nefropatía manifiesta se asocia frecuentemente a retinopatía severa, neuropatía y vasculopatía periférica y coronaria.

Etapa V: insuficiencia renal terminal. Esta etapa se caracteriza por caída del filtrado glomerular, hipertensión arterial con renina baja, disminución de la proteinuria y deterioro progresivo de la función renal hasta la insuficiencia renal terminal. Histológicamente puede existir glomeruloesclerosis nodular, difusa y exudativa, que desembocan en hialinosis, con el cierre glomerular total. La insuficiencia renal terminal aparece generalmente a los 20-25 años de la evolución de la diabetes, y aproximadamente siete años después del inicio de la proteinuria persistente, con unos límites que varían entre cinco y veinte años.^{8,9}

Existe una clasificación más reciente de la nefropatía diabética, la cual se fundamenta en los hallazgos histopatológicos tanto en microscopia de luz y electrónica (Cuadro 2).¹⁰

Cuadro 2.

CLASIFICACION HISTOPATOLOGICA DE LA NEFROPATIA DIABETICA.

Clase	Descripción	Criterios de Inclusión.
I	Cambios en ML leves o inespecíficos y engrosamiento de la MBG comprobados por ME.	La biopsia no cumple ninguno de los mencionados para las clase II, III y IV. MBG >395nm en mujeres y >430nm en hombres en individuos > 9 años de edad
Ila	Expansión mesangial leve.	Biopsia no cumple criterios para clase III o IV. Expansión mesangial leve en < 25% del mesangio.
Ilb	Expansión mesangial severa.	Biopsia no cumple criterios para clase III o IV. Expansión mesangial severa en > 25% del mesangio.
III	Esclerosis nodular (lesión de Kimmelstiel-Wilson)	Biopsia no cumple criterios para clase IV. Por lo menos una lesión de Kimmelstiel-Wilson.
IV	Glomeruloesclerosis diabética Avanzada.	Esclerosis glomerular global en >50% del glomérulo. Lesiones de clase I a III.

ML: Microscopia de luz. ME: Microscopia electrónica. MBG: Membrana basal glomerular.

Fisiopatología de la Nefropatía Diabética.

Es evidente que un mal control glucémico constituye un predictor independiente del desarrollo y progresión de la Enfermedad Renal Asociada a Diabetes (ERAD)¹¹. Aunque se desconocen a detalle completamente los mecanismos que conducen a la ERAD; se conocen con certeza la participación de diversos procesos para iniciar los cambios funcionales y estructurales a nivel renal (por ejemplo hipertrofia glomerular, proliferación mesangial); que conducen a una modificación de la hemodinámica glomerular y estimulan los procesos de proliferación e hipertrofia celular. La modificación de diversas moléculas por el ambiente hiperglucémico con el aumento en la formación de productos de la glicosilación avanzada (AGES); activación de cadenas enzimáticas de distintas reacciones: formación de sorbitol; aumento de estrés oxidativo; activación de la proteína kinasa (PKC) y activación de la ruta de la hexosaminasa van a contribuir a la activación de citocinas y factores de crecimiento que participan de manera activa en la aparición y desarrollo de la ERAD, (esquemático en el siguiente cuadro figura 1).¹²

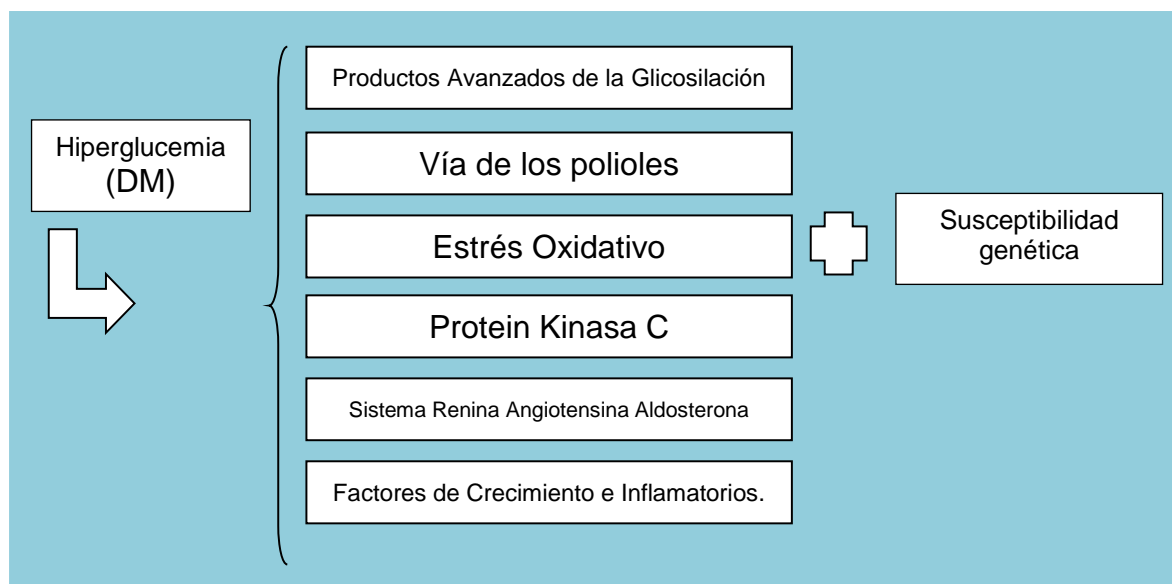


Figura 1. Fisiopatología de la Nefropatía diabética.

Vía de los Polioles.

La aldolasa-reductasa (AR) es la primera enzima de la vía de los polioles; encargada de catalizar la reducción de una amplia variedad de compuestos carbonilo; incluyendo hexosas. Se localiza a nivel citosólico, la encontramos en el ojo (epitelio corneal; cristalino y pericitos retinales); en el riñón (podocitos, células mesangiales, epitelio tubular); nervios periféricos (axones y células de Schwann)¹³. En presencia de hiperglucemia se activa la AR con la producción creciente de sorbitol que conlleva la consiguiente disminución de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH); iniciando su propio proceso metabólico, interfiriendo con la vía glucolítica normal. El sorbitol por acción de la sorbitol-deshidrogenasa; es metabolizado a fructuosa. El sorbitol al no difundirse fácilmente a través de las membranas celulares produce aumento de la presión osmótica intracelular, con potencial daño tisular por edema celular. En las fibras nerviosas el aumento de sorbitol bloquea el contra-transportador Na⁺/Mioinositol; haciendo disminuir el mioinositol y los fosfoinositósidos intracelulares; lo que causa depleción de diacilglicerol (DAG) y el subsecuente freno de la actividad de la ATPasa Na⁺/K causando mayor edema axonal; esto explica el daño neuronal. La oxidación del sorbitol aumenta la relación NADH:NAD⁺, inhibiendo la actividad de la deshidrogenasa gliceraldehído trifosfato (GADPH) y aumentando la concentración de triosafosfato. Al elevarse las concentraciones de este compuesto se incrementa la formación de metilglioaxonal, un precursor de los AGEs y de DAG que activa la PKC.¹⁴ El aumento de Nicotinamida adenin dinucleótido reducido (NADH) favorece la síntesis de DAG; lo que ocurre tanto en el daño renal como en el retiniano pero no en el neuronal. El consumo de NADPH favorece el estrés oxidativo al disminuir el cociente glutatión reducido/oxidado lo cual acelera los procesos de glicosilación; así como aumenta la actividad de la vía de las pentosas; activando a su vez a la PKC.¹⁵

Protein Kinasa C.

La PKC es una enzima de la familia de las serina-treonina kinasas que comprende quince isoformas que tienen en común el ser capaces de fosforilar las proteínas responsables de la transducción de señales intracelulares, y cuya consecuencia es la regulación de diversas funciones vasculares; que incluyen la contractilidad, el flujo, la proliferación celular y la permeabilidad vascular. La isoforma PKC- β 2 aumenta su actividad en las células endoteliales de retina y riñón cuando estas son expuestas a hiperglucemia debido al aumento de la síntesis de DAG un potente estimulador de esta enzima.¹⁶ El empleo de inhibidores de la PKC y de la PKC- β 2 se asocia a efectos benéficos a nivel renal, con reducción de la hiperfiltración glomerular, de la microalbúmina (MAB), de la sobreexpresión del factor transformante del crecimiento β (TGF- β) y el depósito de matriz extracelular.¹⁷

Productos Avanzados de la Glicosilación.

La glicosilación avanzada es el proceso no enzimático por el cual se produce la unión de azúcares reductores como la glucosa, a diferentes moléculas como proteínas. En este proceso suceden etapas sucesivas: 1) Asociación de la glucosa con la proteína, que resulta de la adición del grupo carbonilo del azúcar del grupo amino de la proteína, formando la denominada base de Schiff, estable por un corto tiempo. 2) Reordenamiento de los enlaces químicos, dando lugar a un producto más estable denominado genéricamente producto de Amadori. 3) El compuesto de Amadori sufre una serie de transformaciones que conduce a la formación de los AGEs.¹⁸ Los receptores de los AGEs (RAGE) se expresan en diferentes localizaciones renales; incluyendo podocitos, células endoteliales y musculares lisas, células mesangiales y células epiteliales tubulares.¹⁹ La

unión a estos receptores determina la activación de diversas vías de señalización intracelular; con la subsiguiente generación de especies reactivas de oxígeno; activación de factores de transcripción como el factor nuclear kappa β ($\text{NF}\kappa\beta$); liberación de citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral α ($\text{TNF}\alpha$) o interleucinas (IL) 1 y 6; expresión de moléculas de adhesión y factores de crecimiento como el TGF- β o el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).^{19, 20}

Estrés Oxidativo.

La alta actividad metabólica del riñón determina la generación de una importante cantidad de moléculas oxidantes; entre las que destacan las especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido. Para su disminución el organismo dispone de un sistema de defensa antioxidante formado por elementos enzimáticos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa) y no enzimáticos (glutatión, ácido ascórbico, α -tocoferol).^{19,21} La hiperglucemia es una situación inductora de estrés oxidativo tanto a través de vías enzimáticas como no enzimáticas. En cuanto a las enzimáticas destaca la vía de la NADPH oxidasa, una importante ruta de producción de anión superóxido a nivel celular y vascular.¹⁹ Los pacientes con aumento en la excreción urinaria de albúmina (EUA) muestran mayores niveles de peroxidación lipídica que sujetos con normoalbuminuria.²²

Factores de crecimiento y daño renal asociado a diabetes.

El Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β) representa uno de los factores biológicos con mayor capacidad de generación de fibrosis, existiendo evidencias *in Vitro* e *in Vivo* de su acción inductora de la síntesis de procolágeno y colágeno, la generación de matriz extracelular- intersticial, así como de la inhibición de la degradación de colágeno

por medio de la activación del PAI-I (inhibidor del activador del plasminógeno). La hiperglucemia es un inductor de la producción del TGF- β . El empleo de tiazolidinedionas y Losartán se asocia a una reducción de la expresión tisular de TGF- β junto a una reducción del acumulo de pentosidina, observándose asimismo que la administración de insulina a cultivos de células tubulares, aumentó la expresión de ARNm de TGF- β .^{23, 24}

Factor de crecimiento de endotelio vascular.

El VEGF, que es producido por diferentes tipos celulares; entre los que se incluye la célula mesangial, actúa a través de la unión a receptores específicos de membrana con actividad tirosina quinasa (VEGFR 1 y VEGFR 2) y el receptor complementario neuropilina. Los diversos elementos que participan en la patogenia de esta enfermedad representan un estímulo para la producción de este factor, entre los que se encuentran los AGEs, el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el TGF- β , la IL-1 y la IL-6. Recientemente se ha constatado la participación del óxido nítrico (ON) junto al VEGF en los procesos de neovascularización presentes en la vasculopatía diabética.²⁵ A nivel experimental se ha observado que el empleo de anticuerpos anti-VEGF en ratas diabéticas se provoca una disminución de la hiperfiltración de la albuminuria y de la hipertrofia glomerular.²⁶

Factor de crecimiento de Tejido Conectivo.

El FCTC (Factor de crecimiento de tejido conectivo) media muchos de los efectos del TGF- β como es la síntesis de matriz extracelular. El FCTC interviene como mediador en diversos procesos de daño renal mediante un efecto supresor sobre el WNT y la proteína morfogénica ósea (BMP), y estimulador sobre el TGF- β , receptores tipo integrina y receptores tipo neurotrofina.²⁷

Sistema Renina-Angiotensina.

La Angiotensina II (Ang II), el principal efector del Sistema Renina-Angiotensina (SRA), ejerce su efecto vasoconstrictor de manera predominante sobre las arteriolas eferentes del glomérulo, produciendo un aumento de la presión capilar glomerular y, como consecuencia, una mayor ultrafiltración de proteínas plasmáticas que contribuirá a la proteinuria. La Ang II actúa en el corazón y los riñones uniéndose a la proteína G que se encuentra en los receptores tipo 1 (AT1) y tipo 2 (AT2). La activación del receptor AT1 pone en marcha los efectos deletéreos de la Ang II, como son la vasoconstricción y la hipertrofia vascular y cardíaca, junto a fenómenos inflamatorios proliferativos y fibróticos. La Ang II favorece la producción adrenal de Aldosterona, que recientemente ha sido conocida como mediador en el daño renal y cardíaco.^{28, 29}

Nefropatía diabética e inflamación.

En los últimos años, diversos trabajos han señalado la importancia de las citocinas inflamatorias como elementos determinantes del daño microvascular en la Diabetes Mellitus (DM), y específicamente de la Nefropatía Diabética (ND).³⁰ Tanto en los sujetos no diabéticos con intolerancia a la glucosa (IG) ó glucosa alterada de ayuno, en quienes tienen diagnóstico reciente de diabetes mellitus o quienes ya tenían tiempo del diagnóstico, muestran niveles de reactantes de fase aguda y citocinas proinflamatorias correlacionan con la medición de la resistencia a la insulina. Los pacientes con diabetes mellitus tienen niveles elevados de estos parámetros inflamatorios comparados con sujetos no diabéticos.³¹⁻³⁴

Revisión de los parámetros Inflamatorios presentes en la nefropatía diabética.

Adipocinas: adiponectina, leptina y resistina.

La adiponectina tiene un papel protagónico en la patogénesis de las enfermedades relacionadas a la obesidad; incluyendo la DT2, debido al papel en la regulación de la sensibilidad a la insulina como en la función del endotelio vascular. Además los mecanismos de señal de la adiponectina a través de sus receptores Adipo-R1 y Adipo-R2, incluyendo el AMPK (AMP-activado por proteína cinasa) y cAMP/PKA (cAMP-dependiente de proteína cinasa), se han implicado en las funciones de las células endoteliales e inflamatorias. La adiponectina mejora la sensibilidad a la insulina a través de diferentes mecanismos, facilita el uso de glucosa por incremento en la expresión del transportador GLUT-4 y su traslocación; y mediante la supresión de la gluconeogénesis hepática.³⁵⁻³⁷ La deficiencia de adiponectina reduce drásticamente los niveles de óxido nítrico endotelial.³⁸

La adiponectina suprime el TNF- α que induce cambios inflamatorios en las células endoteliales bloqueando el I κ B (inhibidor del NF- κ B) y la subsecuente activación del NF- κ B sin afectar otras señales mediadas por NF- κ B incluyendo JNK (c-Jun cinasa N-terminal); p38 MAPK (proteincinasa activadora de mitosis), SAPK-2 (proteincinasa 2 activada por estrés) y la Akt cinasa de serina/treonina.³⁹ La gAd (la adiponectina globular C-terminal) es capaz de inhibir la activación mediada por TLR del NF- κ B.⁴⁰ Estudios experimentales indican que la adiponectina se acumula en el riñón lesionando, y previene la lesión glomerular y tubulointersticial, modulando la inflamación y el estrés oxidativo.⁴¹ Hipoadiponectinemia se asocia a un incremento de marcadores inflamatorios como PCR (proteína C reactiva) e IL-6.⁴² El tratamiento con tiazolidinedionas potencialmente incrementa los niveles plasmáticos de adiponectina.

En contraste con la adiponectina, la leptina ejerce varios efectos proinflamatorios; como alteración de la función endotelial, estimulación de patrones de señal inflamatorio, incremento del estrés oxidativo, estimulación de la agregación y migración plaquetaria, así como la estimulación de hipertrofia y proliferación de células de músculo liso vascular. Se ha reportado que los niveles de leptina están incrementados en ambos pacientes con Diabetes tipo 1 y 2 con micro y macroalbuminuria.^{43, 44} La leptina estimula la proliferación de células del endotelio glomerular, incrementa la síntesis del TGF- β 1 y producción de colágena tipo IV. La leptina también estimula hipertrofia, pero no la proliferación en cultivos de células mesangiales de ratas. La infusión de Leptina por 3 semanas en ratas normales promueve la glomeruloesclerosis y la proteinuria.⁴⁵

La resistina contribuye a la disglucemia en obesidad y promueve deterioro endotelial. Es capaz de incrementar la Endotelina, incrementa la expresión de VCAM-1 (Molécula de Adhesión celular vascular -1) y la MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos -1).⁴⁶

Receptores Tipo Toll (Toll-like).

TLRs son una familia de receptores que juegan un papel crítico en la respuesta inmune innata por activación de patrones de señal proinflamatorios en respuesta a patógenos microbianos.⁴⁷ El mecanismo básico de daño vía señalización de TLR en respuesta a daño celular infeccioso y no infeccioso puede afectar al tejido renal. Estudios iniciales sugieren que el TLR2 y TLR4 pueden inducir la expresión de citocinas en las células del epitelio tubular y que el TLR-9 se expresa en células presentadoras de antígeno durante la lesión inmune.⁴⁸

Quimiocinas.

MCP-1 (Proteína quimioatrayente de monocitos).

Se ha demostrado como una característica de la lesión renal por diabetes el reclutamiento de macrófagos, albuminuria, lesión tubulointersticial y progresión de la enfermedad. El bloqueo del MCP-1/CCR2 (Receptor 2 de quimiocina CC) aminora la glomeruloesclerosis indicando la importancia crucial de este patrón en la progresión de la nefropatía diabética.⁴⁹ La administración de análogos de vitamina D pueden inhibir la síntesis y actividad del MCP-1 y aminorar la lesión glomerular en diabetes.⁵⁰

Moléculas de Adhesión Celular.

Molécula de la superficie celular cuya función consiste en favorecer las interacciones adhesivas con otras células sobre una matriz extracelular. Los leucocitos expresan diversos tipos de moléculas de adhesión, como selectinas, integrinas y miembros de la superfamilia de las Ig, que desempeñan un papel decisivo en la migración de las células y en la activación celular dentro de las respuestas inmunitarias.

ICAM-1 (Molécula de Adhesión Intercelular 1).

La expresión incrementada de ICAM-1 que sirve como ligando para el LFA-1 (Antígeno 1 asociado a la función de linfocitos), se detectó en modelos de ND, con asociación directa a lesión renal y progresión de la enfermedad. Parece que ICAM-1 interactúa con linfocitos T y estimula la migración hacia el riñón. Pacientes con DM tipo 1 y 2 tienen concentraciones elevadas de ICAM-1 comparados con sujetos sin lesión renal, lo que sugiere que esta molécula tiene importancia en la patogénesis del desarrollo de daño renal.⁵¹

VCAM-1 (Molécula de Adhesión Celular Vascular-1).

Individuos con DT2 que muestran incremento de la albuminuria y altas concentraciones plasmáticas de VCAM-1 y PCR tienen mortalidad incrementada. Además los marcadores de disfunción endotelial y actividad inflamatoria están fuertemente asociados con el incremento de la excreción urinaria de albúmina durante el seguimiento a 10 años.⁵²

E-Selectina.

También denominada molécula de adhesión leucocítica al endotelio 1 (ELAM-1) o CD62E, se expresa exclusivamente en las células endoteliales activadas por citocinas, de ahí su designación E. Reconoce grupos glucídicos sialilados complejos relacionados con la familia Lewis, observados en diversas proteínas de superficie con los granulocitos, los monocitos y algunos linfocitos T de memoria y efectores que hayan sido activados con antelación. Es importante para la migración de los leucocitos.⁵³

Citocinas proinflamatorias.

IL-1.

El Principal origen celular de la IL-1, al igual que del TNF, son los fagocitos mononucleares activados, la síntesis es inducida por productos bacterianos y otras citocinas, como el TNF. También se sintetiza por otros muchos tipos celulares distintos a los macrófagos, como neutrófilos, células epiteliales (queratinocitos) y células endoteliales.⁵³ Hay dos formas de IL-1, denominadas IL-alfa e IL-beta, que tienen una homología menor del 30% entre sí, pero se unen a los mismos receptores de superficie celular y tienen las mismas actividades biológicas. Ambos polipéptidos de la IL-1 se sintetiza en forma de precursores de 33 kD y se secretan como proteínas maduras de 17 kD. La forma activa de la IL-1beta es el producto escindido, pero la IL-1alfa es activa tanto en forma de precursor de 33 kD

como de producto escindido de menor tamaño.⁵³ La IL-1 Incrementa la síntesis de ICAM-1 y VCAM-1 por las células del endotelio glomerular, induce la síntesis de novo y la expresión de ICAM-1 por las células mesangiales glomerulares y el epitelio tubular renal. Además esta citocina induce la expresión transitoria de E-selectina por células endoteliales.⁵⁴ IL-1 incrementa la permeabilidad del endotelio vascular. Cultivos de células de epitelio tubular proximal estimuladas con IL-1 generan un incremento de las concentraciones de hialuronidasa dando como resultado hiper celularidad glomerular en modelos experimentales de diabetes.⁵⁵

IL-6.

Es una citocina que participa en la inmunidad innata y adaptativa. Se sintetiza por fagocitos mononucleares, células endoteliales vasculares, fibroblastos y otras células en respuesta a los microorganismos y otras citocinas, sobre todo IL-1 y TNF. También se sintetiza por algunos linfocitos T activados. La forma funcional de la IL-6 es un homodímero, y cada subunidad forma un dominio globular con cuatro hélices alfa. El receptor de la IL-6 está formado por una proteína de unión citocinas y una subunidad para la transducción de señales, y ambas pertenecen a la familia del receptor de citocinas de tipo 1. La subunidad de transducción de señales de 130 kD se denomina gp130, y también es el componente de transducción de señales de otros receptores de citocinas. La principal vía de transducción de señales inducida por la IL-6 supone la activación de Jak1 y STAT3, y da lugar a la transcripción de muchos genes diferentes.⁵³

La IL-6 tiene diversas acciones, en la inmunidad innata estimula la síntesis de proteínas de la fase aguda por los hepatocitos, y de esta forma contribuye a la respuesta de la fase aguda. La IL-6 estimula la producción de neutrófilos a partir de progenitores de la médula ósea, habitualmente actuando de manera concertada con factores estimuladores de las

colonias. En la inmunidad adaptativa la IL-6 estimula el crecimiento de los linfocitos B que se han diferenciado en células productoras de anticuerpos.⁵³

Se ha observado que células que infiltran mesangio, intersticio y los túbulos son positivas para RNAm de IL-6. Existe una relación entre la severidad de la glomerulopatía diabética (expansión mesangial) y la expresión de IL-6 (RNAm) en células glomerulares (células mesangiales y podocitos), lo cual indica que IL-6 puede afectar la dinámica de la matriz extracelular alrededor de dichas células. Estudios más recientes en diabéticos tipo 2 demostraron una asociación significativa entre IL-6 y el engrosamiento de la membrana basal glomerular, una lesión crucial de la nefropatía diabética y un fuerte predictor de la progresión de daño renal. La lesión renal mediada por IL-6 se ha relacionado a alteraciones en la permeabilidad endotelial, inducción de proliferación de células mesangiales y la expresión incrementada de fibronectina.^{56, 57}

IL-18.

Citocina con estructura parecida a la IL-1, pero al contrario que la IL-1, sus principales funciones biológicas son la estimulación de la síntesis de IFN- γ , por los linfocitos T CD4+ productores de interferón gama (TH1). Los principales orígenes de la IL-18 son los macrófagos y las células dendríticas, y su síntesis depende de la caspasa1, igual que la IL-1. El receptor de la IL-18 pertenece a la familia del IL-1/RTT, y transduce las señales a través de un dominio TIR que recluta a las proteínas IRAK y TRAF, lo que da lugar a la activación de los factores de transcripción NF-kB y AP-1.⁵³

Además, IL-18 genera la producción de otras citocinas inflamatorias (incluyendo IL-1 y TNF- α) sobre regulación de ICAM-1, así como apoptosis de células endoteliales. La inflamación de monocitos, macrófagos y células T a lo largo de las células del túbulo

proximal son el origen de esta citocina. La excreción de β -2 microglobulina, un marcador de lesión tubulointersticial, está asociada a los niveles de IL-18.⁵⁸

TNF- α .

Es una citocina inflamatoria pleiotrópica producida en los fagocitos mononucleares, el TNF se sintetiza en forma de proteína de membrana no glucosilada de tipo II con un extremo amino terminal intracelular y un gran extremo carboxiterminal extracelular. El TNF de membrana se expresa en forma de homotrímero y es capaz de unirse al receptor del TNF de tipo II (TNF-RII). La forma de membrana del TNF se escinde por una metaloproteinasa asociada a la membrana, liberando un polipéptido de 17 kD. Tres de estas cadenas polipeptídicas se polimerizan para formar la proteína del TNF circulante de 15 kD. El TNF secretado adopta una forma piramidal triangular, y cada lado de la pirámide está formado por una subunidad. Los sitios de unión al receptor están en la base de la pirámide, lo que permite la unión simultánea de la citocina a tres moléculas receptoras.⁵³ Hay dos receptores de TNF distintos de tamaños moleculares de 55 kD (receptor del TNF de tipo I) y de 75 kD (TNF-RII). Las afinidades del TNF por sus receptores son anormalmente bajas para una citocina. Ambos receptores están presentes en la mayoría de los tipos celulares. Estos receptores están en forma de trímeros en la membrana plasmática, incluso antes de la unión del TNF. Los receptores activan factores de transcripción, sobre todo el factor nuclear κ B (NF- κ B) y la proteína de activación (AP-1). La unión de citocinas a otros miembros de la familia, como TNF-R1, produce el reclutamiento de una proteína adaptadora que activa las caspasas y desencadena la apoptosis. Por tanto, diferentes miembros de la familia del receptor del TNF pueden inducir la expresión génica y la muerte celular, y algunos pueden hacer ambas cosas.⁵³

Principalmente se produce por monocitos, macrófagos y células T. Además de células renales incluyendo: células mesangiales, glomerulares, endoteliales, dendríticas y células tubulares renales.⁵⁹ El TNF- α es citotóxico para las células renales, los efectos que han sido reportados incluyen inducción de la apoptosis y necrosis, alteraciones del flujo sanguíneo intraglomerular y GFR como resultado del desequilibrio hemodinámico entre la vasoconstricción y mediadores de la vasodilatación, así como alteraciones e la permeabilidad endotelial. El TNF- α altera la distribución de los receptores de adhesión célula-célula (ejemplo: complejo adherina-catenina del endotelio vascular) y previene la formación de fibras de F-actina. Por otro lado, el TNF- α induce directamente las especies reactivas del oxígeno en diversas células, incluyendo las células mesangiales. Activa la NADPH oxidasa a través de la protein cinasa C/fosfatidilinositol-3 y la vía protein cinasa.⁵⁹ Se ha demostrado un papel importante del TNF- α en el desarrollo de la hipertrofia renal e hiperfunción, dos alteraciones principales durante el estado inicial de la nefropatía diabética.⁵⁹ Estudios en ratas diabéticas mostraron una relación entre la excreción urinaria de TNF- α , retención de sodio e hipertrofia renal, los cuales fueron prevenidos por la administración del anti-TNF- α TNFR:Fc, un receptor de fusión proteico soluble. Además de estos datos de hipertrofia renal e hiperfunción, niveles de RNAm y concentraciones urinarias de TNF-alfa en la corteza renal directa e independientemente correlacionaron con la excreción urinaria de albúmina.⁵⁹

IL-10.

La interleucina es un miembro de una familia de citocinas triméricas unidas no covalentemente, de las cuales cada cadena está formada por un dominio con un fascículo de seis hélices que se intercala con el de la otra cadena.⁵³ El receptor de la IL-10 pertenece a la familia del receptor de citocinas de tipo II y está formado por dos cadenas,

que se asocian a las cinasas de la familia Jano Jak1 y TYk2, STAT3 es la principal molécula de transducción de señales distal inducida por la IL-10. La IL-10 se sintetiza principalmente por los macrófagos activados y por los linfocitos T reguladores.⁵³

La IL-10 inhibe la síntesis de IL-12 por los macrófagos y las células dendríticas activados. Como la IL-12 es un estímulo crítico para la secreción de IFN- γ y es un inductor de las relaciones inmunitarias innatas y celulares frente a los microorganismos intracelulares, la IL-10 actúa inhibiendo todas estas reacciones, además inhibe la expresión de coestimuladores y de moléculas del CPH de la clase II sobre los macrófagos y las células dendríticas.⁵³

Genética en la diabetes.

Actualmente hay una evidencia del papel de los factores genéticos en la nefropatía diabética. La hipertensión, el pobre control glicémico y la albuminuria, factores principalmente conocidos. Muchos estudios han examinado la variabilidad de los genes candidatos en diversas vías para esta complicación, incluyendo el sistema renina-angiotensina, oxido nítrico, y bradicinina.⁵⁹

Se le llama polimorfismo de un nucleótido (SNPs) a la variación que ocurre cuando un simple nucleótido en el genoma está alterado. Los SNPs, que componen aproximadamente el 90% de todas las variaciones genéticas humanas, ocurren en cada 100 a 300 bases a lo largo de las 3 billones de bases en el genoma humano.⁵⁹

Aproximadamente 300,000 polimorfismos de un nucleótido tienen una significancia funcional por que ocurren en regiones codificantes, y regiones promotoras. Algunas de estos polimorfismos tienen un mayor impacto en la susceptibilidad a la enfermedad o la respuesta humana a la enfermedad o los medicamentos.⁵⁹

Los genes que codifican IL-1 y receptor antagonista IL-1 (IL-1Ra), un agente antiinflamatorio natural, codificado en el brazo largo del cromosoma 2. El gen IL-1 β tiene dos bases de cambio o sitios de polimorfismo (C por T) un promotor 511 y exón 5+3953.⁵⁹

MEDICIÓN DE LOS PARÁMETROS INFLAMATORIOS EN EL LABORATORIO.

Los métodos inmunológicos empleados para cuantificar la concentración de antígenos favorecen una sensibilidad (10^{-9} M) y especificidad adecuadas, y se han convertido en técnicas frecuentes dentro de sus aplicaciones clínicas y de investigación. Estos ensayos inmunoenzimáticos ofrecen ciertas ventajas:

- Se pueden desarrollar ensayos sensibles gracias al efecto de amplificación de las enzimas.
- Los reactivos son relativamente baratos y pueden tener una larga vida al almacenarlos.
- Se pueden desarrollar múltiples ensayos simultáneamente.
- El equipo no es necesariamente caro y está ampliamente disponible.
- No existen riesgos radiactivos durante el marcaje ni el desecho de los residuos.

El método de ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción) está basado en la obtención de un antígeno o anticuerpo puro cuya cantidad pueda medirse a través de una molécula indicadora, si esta molécula se encuentra vinculada a una enzima por un enlace covalente, puede cuantificarse con un espectrofotómetro mediante la determinación de la velocidad con la que esta enzima transforma una sustancia transparente en un producto de color.⁵³

JUSTIFICACION.

La nefropatía es causa de alta morbilidad y mortalidad en la población diabética. Se estima que la diabetes tipo 2 ahora contribuye al menos al 50% de pacientes que se encuentran en programas de diálisis por insuficiencia renal terminal.

La diabetes mellitus tiene un componente inflamatorio relacionado con otras complicaciones como la retinopatía. En relación a la fisiopatología de la nefropatía diabética, se ha observado un incremento de marcadores inflamatorios como Proteína C reactiva, Factor de Necrosis Tumoral α , ciertas citocinas como IL-1, IL-6, IL-10, IL-18, modificación en los parámetros de Adipocinas y variaciones en los niveles de Moléculas de Adhesión Celular.

Existen varios estudios que relacionan a estos parámetros de inflamación con disfunción endotelial, proteinuria e incremento en el riesgo de la mortalidad cardiovascular y no cardiovascular. Sin embargo los datos acerca de la relación entre la inflamación y nefropatía son escasos; y aún más escasos son los estudios en la población mexicana.

Al corroborar la tesis de que existe una correlación de estos marcadores de inflamación en la progresión del daño renal en la nefropatía diabética, se abren nuevos campos de intervención en el tratamiento para retardar la progresión de la Enfermedad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

PREGUNTA DE INVESTIGACION.

¿Existe alguna correlación entre los niveles de ciertas citocinas inflamatorias, adipocinas y moléculas de adhesión celular con la excreción de albumina urinaria y el Índice de Filtración Glomerular en lo pacientes con diabetes tipo 2?

OBJETIVO GENERAL.

Determinar si existe correlación entre los niveles de ciertas citocinas inflamatorias (IL-6 e IL-10), adipocinas (Resistina) y moléculas de adhesión celular (VCAM, ICAM y E-selectina) con la presencia de microalbuminuria e Índice de Filtración Glomerular en pacientes mexicanos con Diabetes tipo 2.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar las concentraciones de citocinas inflamatorias (IL-6 e IL-10), adipocinas (Resistina) y moléculas de adhesión celular (VCAM, ICAM y E-selectina) en la población del estudio.
- Determinar el Índice de Filtración Glomerular promedio de la población del estudio utilizando las Fórmulas MDRD, MDRD/IDMS, EPI, Crockcroft-Gault y Crockcroft-Gault/SC.
- Determinar la prevalencia de microalbuminuria en pacientes diabéticos tipo 2 con índice de filtración glomerular $<60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$.

HIPOTESIS.

Existe una relación directamente proporcional entre los niveles de ciertos marcadores inflamatorios con presencia de microalbuminuria y el índice de filtración glomerular de los pacientes estudiados.

Ho: No existe diferencia.

PACIENTES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO.

- Transversal analítico de correlación.

POBLACIÓN DE ESTUDIO.

- **Universo de Estudio:** Pacientes con Diabetes tipo 2 usuarios de la Unidad de Medicina Familiar No. 1 y No. 22.
- **Periodo de Estudio:** De Octubre de 2010 a Julio de 2011
- **Lugar de Estudio:** Ciudad de México.

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Pacientes adultos mayores de 20 años de edad.
2. Con diagnóstico de Diabetes tipo 2, por medio de los siguientes criterios (ADA)
 - a. Glucosa en ayuno igual o mayor a 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
 - b. Glucosa casual > 200 mg/dL (11. 1 mmol/L) en caso de enfermos con síntomas de hiperglucemia (poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso)
 - c. Glucosa > 200 mg/dL 2 horas después de un reto con 75 g de glucosa vía oral.
 - d. Hemoglobina Glucosilada (Hb1Ac) \geq 6.5%.
3. Con consentimiento informado por escrito. **Anexo 2**

CRITERIOS DE EXCLUSION:

1. Descompensación aguda que requiera hospitalización.
2. Pacientes con relación familiar en 2 grado (hermanos, padres ó abuelos).
3. Con enfermedades que reduzcan la sobrevida o que puedan confundir la ocurrencia de eventos (SIDA, Cirrosis Hepática, cualquier neoplasia maligna).
4. Sujetos que no sean capaces de proveer información confiable durante la entrevista (demencia, dependencia al alcohol u otros fármacos).

CRITERIOS DE ELIMINACION:

1. Con muestra inadecuada para la determinación de citocinas y/o moléculas de adhesión.

CÁLCULO DE MUESTRA.

Tamaño Mínimo de Muestra.

Asumiendo una distribución normal de IL-6 entre casos con y sin microalbuminuria, con desviaciones estándar de 0.7 y 0.96 respectivamente, y una diferencia de medias esperada de 0.16, el tamaño mínimo de muestra es de 212 participantes.

DEFINICION DE VARIABLES.

Las variables dependientes fueron la microalbuminuria (determinada por inmunoturbidimetría), espectrofotometría. y el Índice de Filtrado Glomerular se calculó mediante las fórmulas de MDRD, MDRD/IDMS, EPI, Crockcroft-Gault y Crockcroft-Gault/SC., mientras que las variables independientes fueron los niveles de citocinas (IL-6, IL-10), moléculas de adhesión celular (VCAM-1 e ICAM-1) y Adipocinas (Resistina) fueron determinadas por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). **Anexo 3** ^{53, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 68}

Las variables edad, sexo, tiempo de evolución de la diabetes tipo 2, índice de masa corporal, niveles sanguíneos de glucosa, hemoglobina glicosilada, colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos fueron consideradas como covariables.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se calcularon medidas de tendencia central y dispersión para variables cuantitativa, mientras que las variables cualitativas se expresaron como número y porcentaje. Se calculó la prevalencia de microalbuminuria con intervalos de confianza de 95%. Los participantes fueron divididos en grupos en función a la presencia de niveles de microalbuminuria $>30\text{mg/dL}$ y del Índice de Filtración Glomerular $>60\text{ml/min/1.73m}^2$. Se compararon los niveles de citocinas y moléculas de adhesión entre dichos grupos utilizando la prueba t de Student.

Finalmente, para evaluar la correlación entre las variables dependientes e independientes se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó usando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 17.

RESULTADOS.

Características de la población de estudio

De un total de 231 participantes, se incluyeron 189 pacientes con diabetes tipo 2 (DT2); se excluyeron a 42 pacientes por no cumplir con todos los criterios de inclusión. El promedio de edad fue de 52.5 ± 0.4 años, el de tiempo de evolución de la DT2 fue de 6.7 ± 0.4 y el 34.4% de los pacientes fueron hombres. El promedio de índice de masa corporal en encontró sobre el punto de corte para obesidad (28.6 ± 0.3). Los niveles de glucosa y HbA1c fueron superiores a los puntos de corte de control de 110mg/dL y 6.5% respectivamente (145.5 ± 5 y 7.5 ± 0.1). La media de creatinina fue de 0.86 ± 0.04 mg/dL, mientras que la microalbuminuria se encontró en 15.5 ± 3.1 mg/dL [Tabla 1]

Tabla 1. Características de la población de estudio.

Característica	n=189
Sexo masculino	65 (34.4)
Edad, años	52.5 ± 0.4
Tiempo de evolución de la DT2, años	6.7 ± 0.4
Índice de masa corporal, kg/m ²	28.6 ± 0.3
Glucosa, mg/dL	145.5 ± 5
Hemoglobina glicosilada, %	7.5 ± 0.1
Urea, mg/dL	33 ± 1.1
Microalbuminuria, mg	15.5 ± 3.1
Creatinina, mg/dL	0.86 ± 0.04
Colesterol total, mg/dL	168.5 ± 3.4
Colesterol HDL, mg/dL	40.5 ± 1
Colesterol LDL, mg/dL	116.1 ± 2.4
Triglicéridos, mg/dL	188.7 ± 10.6

Los datos se presentan en número(%) ó promedio \pm error estándar.

Estimación del filtrado glomerular en la población de estudio

Al calcular la función renal en la población de estudio, la fórmula Crockcroft-Gault estimó la mayor media en la población, seguida de Crockcroft-Gault/SC, mientras que la fórmula EPI fue la de menor media [Tabla 2].

Tabla 2. *Función renal en la población de estudio.*

Característica	n=189
MDRD	96.5 ± 2.5
MDRD/IDMS	90.8 ± 2.4
EPI	90.5 ± 1.8
Crockcroft-Gault	106.6 ± 3.0
Crockcroft-Gault/SC	103.4 ± 2.7

Los datos se presentan en número(%) ó promedio ± error estándar

Niveles de citocinas en la población de estudio.

Los niveles de citocinas se encontraron en 15.3 ± 5.6 pg/mL y 19.1 ± 3.1 pg/mL para IL-6 e IL-10 respectivamente. Los niveles de Resistina, VCAM, ICAM y E-selectina fueron de 10 ± 0.6 ng/mL, 117.5 ± 2.6 ng/mL, 109.4 ± 6.6 , ng/mL y 6.8 ± 0.3 ng/mL respectivamente.

Tabla 3. *Niveles de citocinas en la población de estudio*

Característica	n=189
IL-6, pg/mL	15.3 ± 5.6
IL-10, pg/mL	19.1 ± 3.1
Resistina, ng/mL	10 ± 0.6
VCAM, ng/mL	117.5 ± 2.6
ICAM, ng/mL	109.4 ± 6.6
E-selectina, ng/mL	6.8 ± 0.3

Los datos se presentan en número (%) ó promedio ± error estándar

Prevalencia de microalbuminuria.

La prevalencia de microalbuminuria (albúmina urinaria >30mg/dL) así como de Índice de filtración glomerular calculado con la fórmula MDRD < 60ml/min/1.73m² fue de 15.9% (IC95% 10.4%-21.3%) [Figura 2].

Microalbuminuria

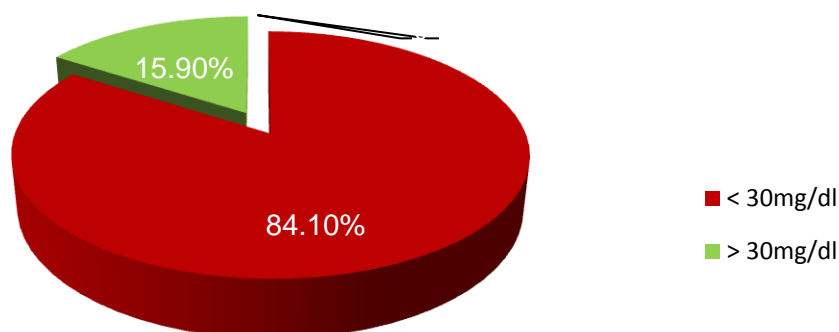


Figura 2. Prevalencia de microalbuminuria en la población de estudio.

Niveles de citocinas en la pacientes con microalbuminuria.

No se encontraron diferencias en los niveles de las citocinas IL-6, IL-10, resistina, VCAM, ICAM, ni E-selectina entre los pacientes con y sin microalbuminuria [Tabla 4].

Tabla 4. Niveles de citocinas en la población de estudio, según la presencia de microalbuminuria

Característica	Albúmina urinaria ≤30mg/dL	Albúmina urinaria >30mg/dL	P
IL-6, pg/mL	15.5 ± 6.7	9.5 ± 4	0.689
IL-10, pg/mL	17.1 ± 2.9	19.3 ± 7.2	0.778
Resistina, ng/mL	10 ± 0.6	10.1 ± 1.4	0.933
VCAM, ng/mL	117.4 ± 2.9	114.7 ± 5.1	0.703
ICAM, ng/mL	105.8 ± 7	127.5 ± 19.4	0.233
E-selectina, ng/mL	6.7 ± 0.3	7.3 ± 0.8	0.399

Los datos se presentan en número (%) o promedio ± error estándar. Valor de P prueba *t*-Student

No se encontró correlación entre los niveles de citocinas IL-6, IL-10, resistina, VCAM y E-selectina y los niveles de microalbuminuria; sin embargo, se encontró una correlación baja entre los niveles de ICAM y los de microalbuminuria [Tabla 5].

Tabla 5. Correlación entre los niveles de microalbuminuria y las de citocinas

Citocina	r_p	P
IL-6, pg/mL	-0.034	0.646
IL-10, pg/mL	-0.003	0.972
Resistina, ng/mL	-0.002	0.978
VCAM, ng/mL	-0.025	0.739
ICAM, ng/mL	0.191	0.009*
E-selectina, ng/mL	0.073	0.320

r_p , coeficiente de correlación de Pearson.

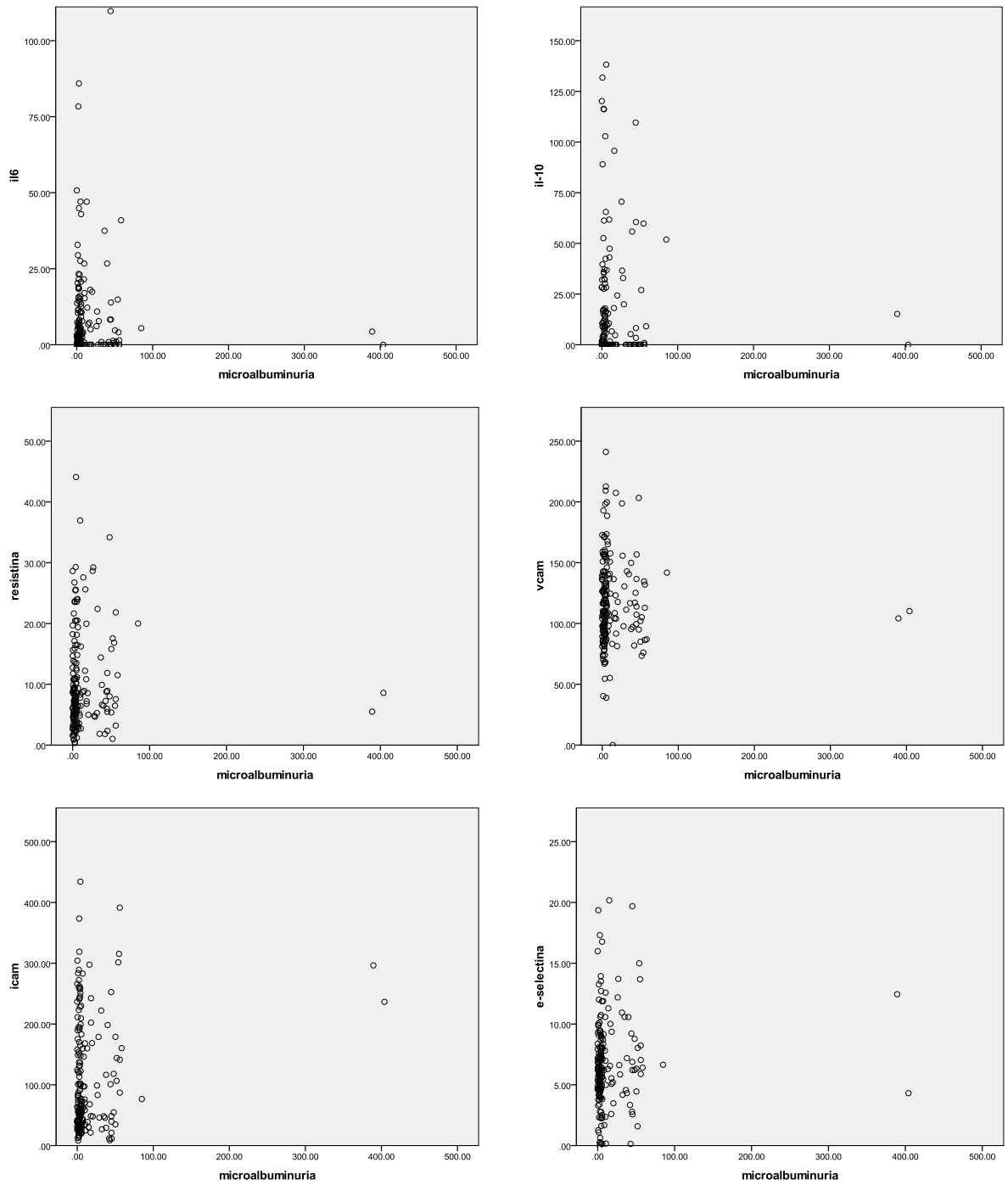


Figura 3. Gráfico de correlación entre los entre los niveles de microalbuminuria y los niveles de citocinas.

Niveles de citocinas en la pacientes con IFG < 60ml/min/1.73m².

Los pacientes con IFG < 60ml/min/1.73m² presentaron niveles menores de VCAM (104 ± 3.5 vs 120 ± 2.9, p=0.001) y mayores de ICAM (170.7 ± 17.8 vs 97.9 ± 6.7, p<0.001) en comparación con aquellos con IFG ≥ 60ml/min/1.73m² [Tabla 6].

Tabla 6. Niveles de citocinas en la población de estudio, según la presencia de IFG < 60ml/min/1.73m²

Característica	IFG		P
	≥60ml/min/1.73m ²	<60ml/min/1.73m ²	
IL-6, pg/mL	15.3 ± 6.6	15.3 ± 6.1	0.999
IL-10, pg/mL	17 ± 3.1	30 ± 10.7	0.131
Resistina, ng/mL	10.4 ± 0.6	8.1 ± 0.9	0.149
VCAM, ng/mL	120 ± 2.9	104 ± 3.5	0.001*
ICAM, ng/mL	97.9 ± 6.7	170.7 ± 17.8	<0.001*
E-selectina, ng/mL	6.6 ± 0.3	8.1 ± 0.9	0.064

Los datos se presentan en número (%) ó promedio ± error estándar. Valor de P prueba t-Student

Se encontró una correlación negativa débil entre los niveles de ICAM y los niveles de Filtrado Glomerular calculado con la fórmula MDRD [Tabla 7].

Tabla 7. Correlación entre los niveles de Filtrado glomerular calculado con la fórmula MDRD y los niveles de citocinas

Citocina	r _p	P
IL-6, pg/mL	-0.083	0.257
IL-10, pg/mL	-0.018	0.808
Resistina, ng/mL	0.009	0.901
VCAM, ng/mL	0.084	0.253
ICAM, ng/mL	-0.233	0.001*
E-selectina, ng/mL	-0.005	0.945

r_p, coeficiente de correlación de Pearson

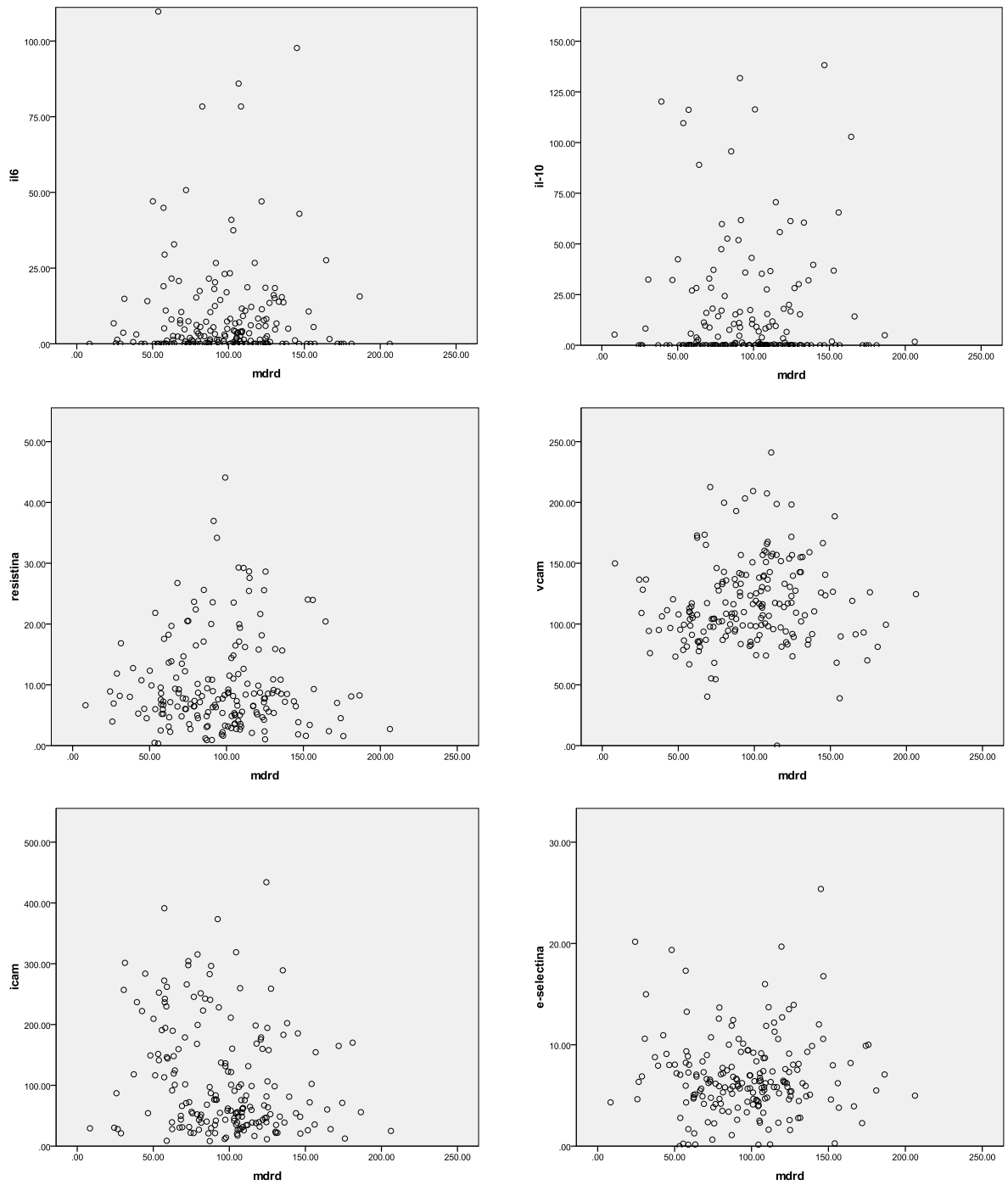


Figura 4. Gráfico de correlación entre los niveles de Filtrado glomerular calculado con la fórmula MDRD y los niveles de citocinas.

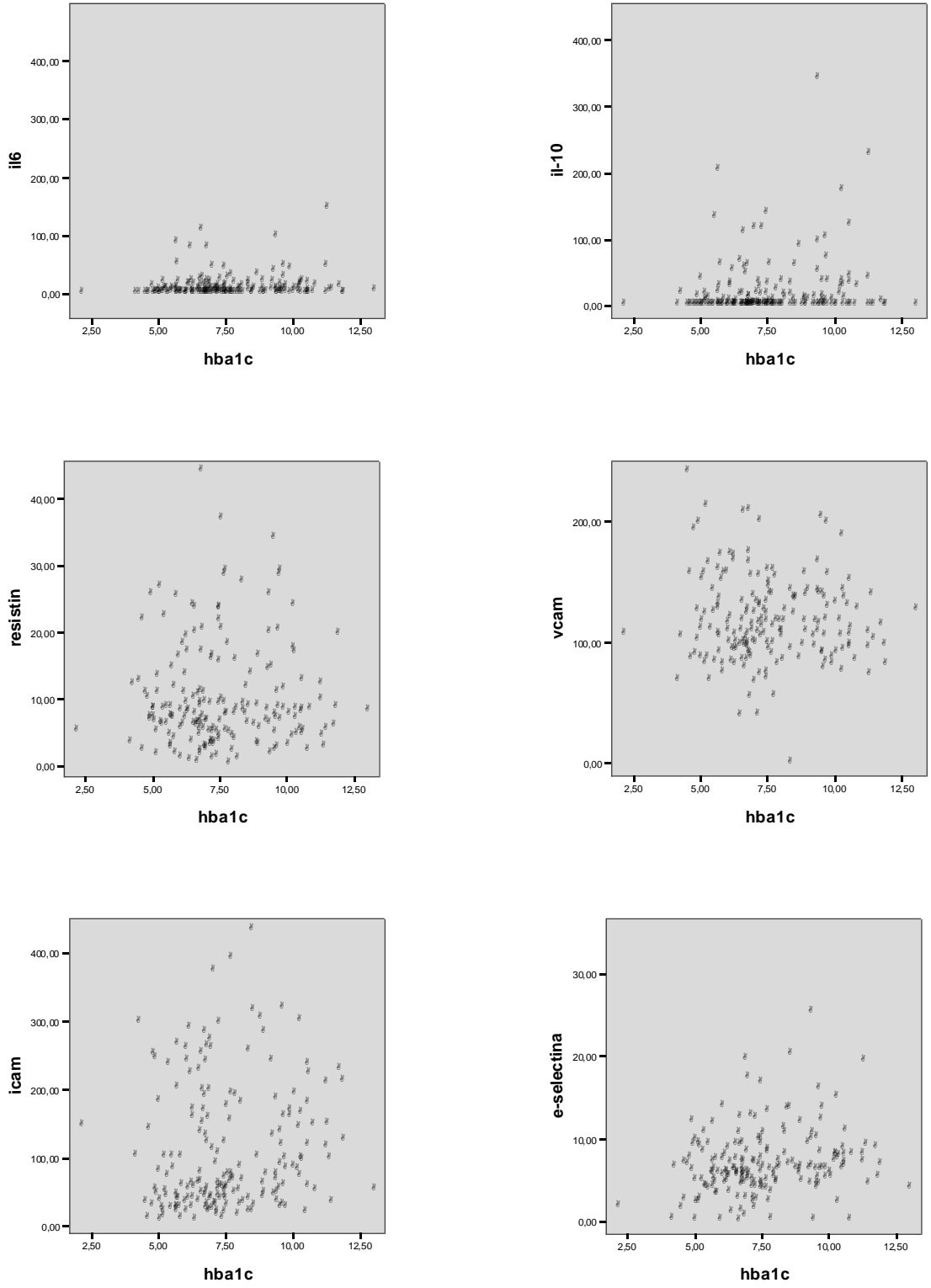


Figura 5. Gráfico de correlación entre los entre los niveles de hemoglobina glicosilada y los niveles de citocinas.

Se encontró una correlación negativa débil entre los niveles de IL-10 y los niveles de hemoglobina glicosilada [Tabla 8].

Tabla 8. *Correlación entre los niveles de Hemoglobina glicosilada y los niveles de citocinas.*

Citocina	r_p	P
IL-6, pg/mL	-0.026	0.718
IL-10, pg/mL	0.149	0.041
Resistina, ng/mL	0.018	0.802
VCAM, ng/mL	-0.075	0.304
ICAM, ng/mL	0.109	0.137
E-selectina, ng/mL	0.209	0.004

r_p , coeficiente de correlación de Pearson

DISCUSION.

Incluimos en nuestro análisis a 189 de una muestra de 231 pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. La prevalencia de microalbuminuria en nuestra población fue de 15.9%. Se obtuvieron 4 hallazgos principales de este estudio trasversal. *Primero*, existe una correlación entre los niveles de microalbuminuria con un incremento en los niveles séricos de ICAM-1, como se refiere en el estudio de Stehouwer et al. realizado en una población de 328 pacientes diabéticos a quienes dieron seguimiento por 9 años. Se relacionó con un incremento en la mortalidad en los pacientes que presentaron mayores niveles de albuminuria y concentraciones séricas de ICAM-1.^{69,71} En una población de 795 pacientes diabéticos tipo 1, Sahakyan et al. analizaron la relación entre la proteinuria con las concentraciones de IL-6, VCAM-1 e ICAM-1. Después de un análisis multivariado ajustado observaron una relación entre la prevalencia de proteinuria con los niveles de IL-6 (RR 1.41 [IC 95%1.06-1.88], VCAM-1 (RR 13.35 [IC 95% 5.39-33.07] e ICAM-1 (RR 1.80 [IC 95% 0.72-4.46]).⁷² En otro estudio por realizado por Agnes et al. con una muestra de 316 pacientes con edades que van de los 50 a 75 años, donde se incluyeron a 66 pacientes diabéticos tipo 2, se les dio un seguimiento a 6.1 años. Observaron una relación entre una elevada excreción urinaria de albumina asociada con el incremento en los niveles de VCAM-1 (OR 1.14 [IC95% 1.02-1.27] por un incremento en 10% de VCAM-1) y Proteína C reactiva (OR 1.17 [IC95% 1.04-1.32] por un incremento del 50% de PCR).⁷⁵

En contraste, Virella et al. no encontraron una correlación entre la proteinuria y los niveles de ICAM-1 en una población de 1,441 pacientes con diabetes mellitus tipo 1, un subgrupo de pacientes del Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)/Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications (EDIC) study cohort.⁷⁰

Segundo, en nuestro estudio observamos una correlación entre un Índice de Filtrado Glomerular $<60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ con menores niveles de VCAM-1 y mayores de ICAM-1. En relación a lo anterior Axelsson et al. en su estudio de 239 pacientes con Enfermedad Renal Crónica estadios 3, 4 y 5 de KDOQI observaron una significancia estadística en la relación del deterioro del filtrado glomerular con el incremento en los niveles séricos de IL-6 e ICAM-1 ($p<0.0001$ y $p<0.0001$ respectivamente) no así para VCAM-1 ($p=0.06$).⁷³ En otro estudio realizado de 1986 a 1994 que incluía a pacientes del género masculino, con una muestra de 732 pacientes, se encontró una correlación estadísticamente significativa entre un IFG $\leq 60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ (calculado mediante la ecuación de MDRD) con el incremento en los niveles séricos de triglicéridos (OR 3.11; IC 95%, 1.52-6.36), fibrinógeno (OR 5.40; IC 95% 2.14 a 13.65), receptor 2 del TNF (OR 8.34; IC 95% 3.5 a 19.88) y VCAM-1 (OR 4.50; IC 95% 1.98 a 10.23). No encontró una relación con significancia estadística cuando se realizó la misma comparación con los niveles de ICAM-1.⁷⁴

Tercero. Observamos una correlación negativa débil entre niveles de IL-10 y E-selectina menores con el incremento de las cifras de Hb1Ac. Como fue observado por Schram et al en una cohorte de 543 pacientes, quienes asociaron la elevación de la Hb1Ac con los niveles de PCR, IL-6, TNF- α y E-selectina.

Cuarto. Se obtuvo una prevalencia de microalbuminuria en población la población estudiada de 15.9% muy cercana a la reportada por la literatura. La prevalencia de microalbuminuria en pacientes con diabetes tipo 2 se presenta en 15 a 37 % de los casos y puede variar según el grupo étnico, la edad o los años de evolución de la diabetes.

77,78,79

Una limitación de este estudio es no haber realizado las determinaciones de otros marcadores inflamatorios ampliamente descritos en la literatura como son Proteína C reactiva de alta sensibilidad y TNF- α . Otra limitante es el uso de las Fórmulas para el

cálculo del Índice de filtración glomerular en lugar de la Estudios de Medicina Nuclear, considerados como *gold estándar* para dicha medición. Además el uso de Fórmulas como la de EPI/CKD aún no ha sido validado para población Mexicana.

CONCLUSIONES.

Existe correlación entre un incremento de los niveles séricos de ICAM-1 con los niveles de microalbuminuria. En los pacientes con un Índice de Filtración Glomerular $\leq 60 \text{ml/min/1.73m}^2$, se observan mayores concentraciones séricas de ICAM-1 y menores niveles de VCAM-1, lo que sugiere que esta molécula puede jugar un papel de importancia en la patogénesis del desarrollo de daño renal en la diabetes mellitus.

Además estas moléculas son marcadores de disfunción endotelial y actividad inflamatoria y pueden estar asociados con el incremento de la excreción urinaria de albúmina y/o deterioro de la función renal en este tipo de pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Velázquez-Monroy O, Rosas PM, Lara EA, et al. *Prevalencia e Interrelación de Enfermedades Crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México*. Arch Cardiol Mex 2003; 73:62-772.
2. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. *Nephropathy in patients with type 2 diabetes*. N Engl J Med, 2002; 346: 1145-1151.
3. Breyer JA. *Diabetic nephropathy in insulin-dependent patients*. Am J Kidney Dis 1992; 20: 533-547.
4. Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S. *Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes*. J Clin Invest 1996; 99: 342-348.
5. Steffes MW, Bilous RW, Sutherland DER et al. *Cell and matrix components of the glomerular mesangium in type 1 diabetes*. Diabetes 1992; 41: 679-684.
6. Berkman J, Riflin H. *Unilateral nodular diabetic glomerulosclerosis (Kimmelstiel-Wilson): report of case*. Metabolism 1973; 22: 715.
7. Mongensen CE, Schmitz O. *The diabetic kidney from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure*. Med Clin North Am 1998; 1: 465-492.
8. Christiansen JS, Fradsen N, Srendensen PA et al. *Rapid changes in Kidney function in diabetic and normal man*. Acta Endocrinol 1981; 242: 11-221.
9. Torffvit O, Agardh C-D, Mathiasson A. *A lack of association between cystopathy and progression of diabetic nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus*. Scand J Urol Nephrol 1997; 31: 365-369.
10. Cohen T., Mooyaart A., Amann K., et al. *Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy*. J Am Soc Nephrol 2010; 21: 556–563.
11. Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, Pedersen O. *Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes*. N England J Med 2008; 358: 580-591.
12. Marrón B, Ortiz A, Egido J. *Factores patogénicos en la nefropatía diabética ¿de donde venimos, hacia donde vamos?* Nefrologia 2001, 21 (supl 3):18-23.
13. Wallner EI, Wada J, Tramonti A, Lin S, Srivastava SK, Kanwar YS. *Prevalence of aldo-keto reductase family members to the pathobiology of Diabetic Nephropathy and renal development*. Ren Fail 2001; 23:311-320.
14. Ramana KV, Friedrich B, Tanmali R, West MB, Bhatnagar A, Srivastava SK. *Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerid in vascular smooth muscle cells*. Diabetes 2005; 54:818-829.
15. Chung SMS, Ho ECM, Lan KSL, Chung SK. *Contribution of Polyol Pathway to Diabetes-Induced oxidative Stress*. J Am Soc Nephrol 2003; 14:s233-s236.
16. Way KJ, Katai N, King GL. *Protein Kinase C and the development of diabetic vascular complications*. Diabet Med 2001; 18:945-959.
17. Koya D, Haneda M, Nakagawa H. *Amelioration of accelerated diabetic mesangial expansion by treatment with PKC beta inhibitor in diabetic db/db mice, a rodent model for type 2 diabetes*. FASEB J 2000; 14:439-447.
18. Huebschmann AG, Rogensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE. *Diabetes and advanced glycoxidation and products*. Diabetes Care 2006; 29:1420-1432.
19. Tan ALY, Forbes JM, Cooper ME, *AGE, RAGE and ROS in diabetic nephropathy*. Semin Nephrol 2007; 27:130-143.

20. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, et al. *Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation and products*. J Mol Med 2005; 83:876-886.
21. Vasavada N, Agarwal R. *Role of oxidative stress in diabetic nephropathy*. Adv Chronic Kidney Dis 2005; 12:146-154.
22. Shimoike T, Inoguchi T, Umeda F, Nawata H, Kawano K, Ochi H. *The meaning of serum levels of advanced glycosylation and products in diabetic nephropathy*. Metabolism 2000; 49:1030-1035.
23. Böttinger EP, Blitzer M. *TGF- β Signaling in Renal Disease*. J Am Soc Nephrol 2002; 13:2600-2610.
24. Perico N, Remuzzi G. *Inhibition of TGF beta expression: a novel role of thiazolidinediones to implement renoprotection in diabetes*. Kidney Int 2007; 72:1419-1421.
25. Nakagawa T, Soto W, Sautin YY. *Uncoupling of Vascular Endothelial Growth Factor with Nitric Oxide as a Mechanism for Diabetic Vasculopathy*. J Am Soc Nephrol 2006; 17:736-745.
26. De Vriese AS, Tilton RG, Elger M, Stephan CC, Kriz W, Lameire NH. *Antibodies against Vascular Endothelial Growth Factor Improve Early Renal Dysfunction in Experimental Diabetes*. J Am Soc Nephrol 2001; 12:993-1000.
27. Schmidt-Ott KM. *Unraveling the role of connective tissue growth factor in diabetic nephropathy*. Kidney Int 2008. 73:375-376.
28. Remuzzi G, Perico N, Mada M, Ruggenenti P. *The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease*. Kidney Int 2005; 68:557-565.
29. Lely AT, Hamming I, Van Goor H, et al. *Renal ACE2 expression in human kidney disease*. J Pathol 2004; 204:587-593.
30. Navarro J. *Nefropatía diabética: ¿Una cuestión de inflamación? Hipótesis del daño renal inflamatorio en la diabetes mellitas tipo 2*. Nefrología 2003; 23:381-389.
31. Festa A, D'Agostino R, Howard G, et al. *Chronic subclinical inflammation as part of the insulina resistance syndrome: the insulin resistance. Atherosclerosis study (IRAS)*. Circulation 2000; 101:42-47.
32. Navarro JF and Mora C. *Role of inflammation on diabetic complications*. Nephrol Dial Trasplant 2005; 20:2601-2604.
33. Müller S, Marfin S, Koenig W, et al. *Impaired glucose tolerance is associated with increased serum concentrations of interleukin 6 and co-regulated acute phase proteins but not TNF- α or its receptors*. Diabetologia 2002; 45:805-812.
34. Temmelkova-Kurktschieu T, Henkel E, Koelher C, et al. *Subclinical inflammation in newly detected type II diabetes and impaired glucose tolerance*. Diabetologia 2002; 45:151.
35. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K and Tobe K. *Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes and metabolic syndrome*. J Clin Invest 2006; 116:1784-1792.
36. Ceddia RB, Somwar RJ, Maida A, Fang X, Bikopoulos G and Sweeney G. *Globular adiponectin increases GLUT-4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells*. Diabetologia 2005; 48: 132-139.
37. Fu Y, Lou N, Klein RL and Garvey WT. *Adiponectin promotes adipocyte differentiation insulin sensitivity and lipid accumulation*. J Lipid Res 2005; 46:1369-1379.
38. Furukawa S, Fujita T, Shimabukoro M, et al. *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome*. J Clin Invest 2004; 114:1752-1761.

39. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. *Adiponectin an adipocyte derived plasma proteína, inhibits endotelial NF-kB signaling through a cAMP-dependent pathway.* Circulation 2000; 102:1296-1301.
40. Yamaguchi N, Argueta JG, Masuhiro Y, et al. *Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling FEBS.* Lett 2005; 579:6821-6826.
41. Ohashi K, Iwatani H, Kihara S, et al. *Exacerbation of albuminuria and renal fibrosis in subtotal renal ablation model of adiponectin-knockout mice.* Arterioscler Thromb Vasc Bid 2007; 27:1910-1917.
42. Valle A, Martos R, Gascón F, Cañete R, Zafra MA and Morales R. *Low-grade systemic inflammation, hipoadiponectinemia and a high concentration of plasma leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome.* Diabetes Metab 2005; 31:52-62.
43. Fruehwald-Shulte B, Kern W, Beyer J, et al. *Serum leptin levels in young females with insulin-dependent diabetes and the relationship to hyperandrogenicity and microalbuminuria.* Horm Res 1998; 50:297-302.
44. Rudberg S and Persson B. *Elevated serum leptin concentration in type 2 diabetes microalbuminuria and macroalbuminuria.* Metab Clin Exp 1999; 48:1290-1293.
45. Wolf G and Ziyadeh FN. *Leptin and renal fibrosis.* Contrib Nephrol 2006; 151:175-183.
46. Verma S, Li SH, Wang CH, et al. *Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction.* Circulation 2003; 108:736-740.
47. Medzhitov R. *Toll-like receptors and innate immunity.* Nat Rev Immunol 2001; 1:135-140.
48. Anders HO, Banas B and Schlöndorft D. *Signaling danger: Toll-like receptors and their potential roles in kidney diseases.* J Am Soc Nephrol 2004; 15:854-867.
49. Kanamori H, Matsubara T, Mima A, et al. *Inhibition of MCP-1/CCR2 pathway ameliorates the development of diabetic nephropathy.* Biochem Biophys Res Commun 2007; 360:772-777.
50. Zhang Z, Yuan W, Sun L, et al. *1,25-Dihydroxyvitamin D3 targeting of NF-kB suppresses high glucose-induced MCP-1 expression in mesangial cells.* Kidney Int 2007; 72:193-201.
51. Clausen P, Jacobsen P, Rossing K, et al. *Plasma concentrations of VCAM-1 and ICAM-1 are elevated in patients with type 1 diabetes mellitus with microalbuminuria and overt nephropathy.* Diabetic Med 2000; 17:644-649.
52. Stehouwer CDA, Gall MA, Twisk JWR, Knudsen E, Emeis JJ and Parving HH. *Increased urinary albumin excretion endothelial dysfunction and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated and independently associated with risk of death.* Diabetes 2002; 51:1157-1165.
53. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai Shiv. 2008. *Inmunología celular y molecular.* 6a edición. España, Elsevier.
54. Brady HR. *Leukocyte adhesion molecules and kidney diseases.* Kidney Int 1994; 45:1285-1300.
55. Mahadevan P, Larkins RG, Fraser JR, Foseng AJ, Dunlop ME. *Increased hyaluronan production in the glomeruli from diabetic rats: Link between glucose induced prostaglandin production and reduced sulphated proteoglycans.* Diabetologia 1995; 38:298-305.
56. Dalla Vestra M, Mussap M, Galline P, et al. *Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes.* J Am Soc Nephrol 2005; 16(suppl 1):578-582.

57. Coleman DL, Ruel C: Interleukin 6: *An autocrine regulator of mesangial cell growth*. *Kidney Int* 1992; 41: 604-606.
58. Moriwaki Y, Yamamoto T, Shibutani Y, et al. *Elevated levels of interleukin 18 and tumor necrosis factor-alpha in serum of patients with type 2 diabetes mellitus: relationship with diabetic nephropathy*. *Metabolism* 2003; 52:605-608.
59. Navarro-Gonzalez F, Mora-Fernández C. *The Role of Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy*. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:433-442.
60. *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria*.
61. Wolf HU et al. *Glycated Hemoglobin*. *Clin Chem Acta* 1984; 136: 83-104.
62. Bakris GL: *Microalbuminuria: prognostic implications*. *Curr.Opin.Nephrol. Hypertens.* 1996; 5:219-223.
63. Marín R, Goicoechea A, Gorostidi M, et al. *Guía de la Sociedad Española de Nefrología sobre riñón y enfermedad cardiovascular*. *Nefrología* 2006; 26(1):31-44.
64. Tovillas-Morán, M. Vilaplana-Coscolluela, A. Dalfó-Pibernat, E. Zabaleta-del-Olmo, J.M. Galcerán, A. Coca, A. Dalfó-Baqué. *El filtrado glomerular reducido según las fórmulas de Cockcroft-Gault y MDRD no siempre predice la morbimortalidad cardiovascular en los pacientes hipertensos atendidos en atención primaria*. *Nefrología* 2010;30(6):653-60.
65. Sánchez F., García R, Alarcón F, Cruz M. *Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune*. *Gac Méd Méx* 2005; 141 (6), 505-512.
- 66 <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/integradotercero/apfisiopsist/nutricion/NutricionPDF/Metabolismo.pdf>.
- 67 http://www.health-kiosk.ch/es/lexikon_ajax.htm?id=281.
- 68 <http://es.scribd.com/doc/50046576/13/Metodos-analiticos-y-valores-de-referencia>.
- 69 Coen D.A. Stehouwer, Mari-Anne Gall, Jos W.R. Twisk, Elisabeth Knudsen, Jef J. Emeis, and Hans-Henrik Parving *Increased Urinary Albumin Excretion, Endothelial Dysfunction, and Chronic Low-Grade Inflammation in Type 2 Diabetes*. *Diabetes* 51:1157–1165, 2002.
- 70 Virella M. Carter R., Gilbert G., Klein R., Jaffa M., Jenkins A., Lyons T., Garvey T., Virella G. *Risk Factors Related to Inflammation and Endothelial Dysfunction in the DCCT/EDIC Cohort and Their Relationship With Nephropathy and Macrovascular Complications*. *Diabetes Care* 31:2006–2012, 2008.
- 71 Lin J., Glynn R., Rifai N, Manson J., Ridker P., Nathan D., Schaumberg D., *Inflammation and Progressive Nephropathy in Type 1 Diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial*. *Diabetes Care* 31:2338–2343, 2008.
- 72 Sahakyan K., Klein B., Lee B., Tsai M., Klein R. *Inflammatory and Endothelial Dysfunction Markers and Proteinuria in Persons with Type 1 Diabetes Mellitus*. *Eur J Endocrinol.* 2010 June ; 162(6): 1101–1105.
- 73 Axelsson J., Bergsten A., Qureshi A., Heimbürger O., Bárány P., Lönnqvist F., Lindholm B., Nordfors L., Alvestrand A., Stenvinkel P., *Elevated resistin levels in chronic kidney disease are associated with decreased glomerular filtration rate and inflammation, but not with insulin resistance*. *Kidney International* (2006) 69, 596–604.
- 74 Lin J., Hu B., Rimm E., Rifai N., Curhan G., *The Association of Serum Lipids and Inflammatory Biomarkers with Renal Function in Men with Type 2 Diabetes Mellitus*. *Kidney Int.* 2006 January; 69(2): 336–342.
- 75 Agnes V., van Hinsbergh P., Kostense J., Emeis J., Nijpels G., Dekker J., Heine R., Bouter L., Stehouwer C., *C-Reactive Protein and Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 Are Associated With Elevated Urinary Albumin Excretion but Do Not*

Explain Its Link With Cardiovascular Risk. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22:593-598.)

- 76 Schram M., Chaturvedi N., Schalkwijk C., Giorgino F., Ebeling P., Fuller H., Stehouwer C., *Vascular Risk Factors and Markers of Endothelial Function as Determinants of Inflammatory Markers in Type 1 Diabetes. Diabetes Care 26:2165–2173, 2003.*
- 77 Poirier S. *Preserving the diabetic kidney. J Fam Practice 1998;4(1):21-28.*
- 78 Halabe BA. *Microalbuminuria. Utilidad clínica. An Med Asoc Med Hosp ABC 1999;44(2):82-85.*
- 79 Leza O., Briones E., González M., De la Cruz M., Ramos E. *Microalbuminuria en pacientes con diabetes tipo 2. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; 43 (6): 487-493 487.*

ANEXOS.

ANEXO 1 A.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
U.M.A.E. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DR. BERNARDO SEPÚLVEDA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
U.I.M. EN BIOCQUÍMICA

Miércoles, 22 de junio de 2011

DR. ADOLFO CHAVEZ NEGRETE,
JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION
EN SALUD.

Me dirijo usted para solicitar de la manera más atenta su aprobación para que el **Dr. Rogelio Ivan Silva Rueda**, residente 5° año de Nefrología, realice su Tesis de Especialidad durante un año.

La Tesis a desarrollar tiene como Título: "Correlación entre los niveles de citocinas inflamatorias con aparición de proteinuria en población Mexicana con Diabetes Mellitus", que formara parte del proyecto "Estudio de Variantes del Número de copia (CNVs) en el Genoma de pacientes con Diabetes Tipo2 y su Implicación en las Complicaciones mas Frecuentes". N° Registro 2008-785-073, FIS/IMSS/PROT/635.

Sin más por el momento, aprovecho para enviarte un cordial saludo.

Atentamente

Dr. Miguel Cruz López
Jefe, UIM en Bioquímica
Email mcruzl@yahoo.com
Tel 57612358



Instituto Mexicano del Seguro Social
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE ATENCIÓN MÉDICA
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
U.I.M. EN BIOCQUÍMICA

IMSS

MCL/enr



INSTITUTO MEXICANO DE SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
"2008, Año de la Educación Física y el Deporte"

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Ref. 09-B5-61-2800/200800

Diciembre 10, 2008 2110

DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ
Unidad de Investigación Médica en Bioquímica
UMAE, Hospital de Especialidades
Centro Médico Nacional SXXI
México, D. F.

Informo a usted que el protocolo titulado: "**Estudio de variantes de Número de Copia (CNVs) en el Genoma de Pacientes con Diabetes Tipo 2 y su implicación en las complicaciones más frecuentes**", fue sometido a la consideración de esta Comisión Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas éticas vigentes y la carta de consentimiento informado es suficientemente explícita, por lo cual tengo el agrado de hacerle saber que con base en las opiniones de los vocales de esta Comisión, se ha emitido dictamen de **AUTORIZADO**, con número de registro: **2008-785-073**.

Atentamente

DOCTOR CÉSAR A. CRUZ SANTIAGO
Presidente
Comisión Nacional de Investigación Científica

Con copia:

- Dr. Mario Madrazo Navarro, Director de la UMAE, Hospital de Especialidades, C.M.N. Siglo XXI.
- Dr. Adolfo Chávez Negrete, Director de Educación e Investigación en Salud, UMAE Hospital de Especialidades, C.M.N. Siglo XXI.

007Piah
12591-2008-065

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

4º piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores México 06720

ANEXO 1 C.

CORRECCION AL MAIL DEL 26-09-08 MONTOS CORRECTOS SALUD 2008 ... Página 1 de 2



CORRECCION AL MAIL DEL 26-09-08 MONTOS CORRECTOS SALUD 2008

Monday, September 29, 2008 1:12 PM

From: "Eduardo Valdes - Dictamen" <dictamen@conacyt.mx>

To: mcruzl@yahoo.com

**FONDO SECTORIAL DE INVESTIGACIÓN EN
SALUD Y SEGURIDAD SOCIAL**

Secretaría Técnica

Ciudad de México, a 12 de septiembre de 2008

**ESTIMADO DR. MIGUEL CRUZ LOPEZ
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL - FONDO PARA EL FOMENTO A LA
INVESTIGACION MEDICA
P r e s e n t e**

Por este conducto nos es grato informarle que el Comité Técnico y de Administración del Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social, decidió apoyar su proyecto **87650**, "ESTUDIO DE VARIANTES DEL NÚMERO DE COPIA (CNVS) EN EL GENOMA DE PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 Y SU IMPLICACIÓN EN LAS COMPLICACIONES MAS FRECUENTES", por un monto de \$ **2400000** (DOS MILLONES CUATROCIENTOS MIL PESOS 00/100 m.n).

Lo anterior obedece a que debido a la disponibilidad de recursos del Fondo para 2008, fue necesario reducir el presupuesto a fin de otorgarle financiamiento al total de propuestas con calidad que fueron presentadas en esta Convocatoria.

Al agradecer la gentileza de su atención, aprovechamos la ocasión para felicitarle por la aprobación de su propuesta. No omito manifestar que las indicaciones para llevar a cabo la formalización del Convenio se le harán llegar en breve.

Atentamente

ANEXO 2.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LAS PERSONAS QUE PARTICIPARAN EN EL ESTUDIO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a _____.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado: **Estudio de Variantes del Número de Copia (CNVs) en el Genoma de Pacientes con Diabetes Tipo 2 y su implicación en las complicaciones más frecuentes**

El propósito de nuestra línea de investigación tiene como objetivo primordial conocer la composición genética de la población que vive en la Ciudad de México y la búsqueda de marcadores moleculares asociados a la diabetes tipo 2. Esto nos permitirá identificar, en el futuro, variantes génicas asociadas a diabetes tipo 2.

Uno de los motivos para realizar nuestros estudios está fundamentado en el alarmante incremento de la diabetes en nuestra población y cada día en individuos de menor edad (publicación internacional de nuestro grupo). Es bien conocido que el país ha sufrido cambios en sus estilos de vida: alimentación con alto contenido calórico y vida sedentaria, lo que se ha traducido en sobrepeso y obesidad. Esta condición nos ha predispuesto a presentar un incremento en la prevalencia de diabetes.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

Autorizar el uso de una muestra de sangre de 10 mL para obtener DNA, que habrá de congelarse. Declaro que se me han informado los posibles riesgos inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio y que son los siguientes: La molestia de una punción venosa.

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento; así como responder a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán al cabo, los riesgos y beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento. Además, de informarme los resultados de la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que con ello afecte la atención médica que recibo del instituto.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven del estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esto pudiera hacerme cambiar de opinión respecto de mi permanencia en el estudio.

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma del investigador

Testigo

Testigo

ANEXO 3.

TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE CITOCINAS (R&D Systems).

Preparación de las placas de ELISA

1. Transferir 100 μ L del anticuerpo de captura a una placa de ELSA (diluido en la apropiada concentración en Buffer de fosfato, utilizar inmediatamente). Tapar e incubar durante la noche a temperatura ambiente la placa.
2. Aspirar cada pozo y lavar con Buffer, repetir el proceso por un mínimo de 3 lavados. Lavar con cierta presión llenando cada pozo con el buffer de lavado (400 μ l) usando una pipeta multicanal, dispensador múltiple, lavado automático. La eliminación total del líquido en cada paso es esencial para un buen rendimiento. Después del último lavado, eliminar cualquier resto de buffer por aspiración y por inversión de la placa dejándola reposar en una toalla de papel limpia o secante.
3. Bloquear las placas mediante la adición de 300 μ l del buffer de bloqueo recomendado a cada pocillo. Incubar a temperatura ambiente durante mínimo una hora.
4. Repita el paso 2 (aspiración/lavado). Las placas están listas para la adición de la muestra. Por otra parte, el buffer de bloqueo puede ser aspirado después del paso 3 y las placas pueden ser secadas al vacío. Cuando se tapan, las placas pueden ser almacenadas a 4^o-8^oC durante al menos 2 meses.

Ensayo.

- a) Diluciones de muestras y estándares deben hacerse en tubos de polipropileno. Agregar 100 μ l de muestra o estándar en un diluyente apropiado, por pozo.

Homogenizar golpeando suavemente el marco de la placa durante un minuto.

Cubrir con una tira adhesiva e incubar 2 horas a temperatura ambiente.

- b) Repetir el paso 2 (lavado/aspiración de la placa).
- c) Añadir 100 μ l del anticuerpo de detección biotinilado, diluyente apropiado a cada pozo. Cubrir con una nueva tira adhesiva e incubar 2 horas a temperatura ambiente.
- d) Repetir el paso 2 (lavado/aspiración de la placa).
- e) Añadir 100 μ l de estreptavidina-HRP (R&D Systems, diluir de acuerdo con la instrucciones en la etiqueta del frasco) en cada pocillo. Cubrir la placa e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Un sistema de detección alternativo puede ser utilizado. Evitar colocar la placa a la luz directa.
- f) Repetir el paso 2 (lavado/aspiración de la placa).
- g) Añadir 100 μ l de solución substrato (R&D Systems) en cada pocillo. Incubar por 20 a 30 minutos a temperatura ambiente. Evitar colocar la placa a la luz directa.
- h) Añadir 50 μ l de solución de paro (Stop solution) a cada pocillo. Golpear suavemente la placa para asegurar una adecuada homogenización.
- i) Determinar la densidad óptica (OD) para cada pocillo dentro de los 30 minutos posteriores. Si se usa lector de microplacas R&D System, establecer el lector a 450 nm. Si la corrección de la longitud de onda está disponible, establecer de 540 a 570 nm. Esta resta corregirá la imperfección óptica en las placas.