



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y PCSK9 EN
PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA: 
LINA IVETTE MEDINA ORTIZ


TUTOR PRINCIPAL
DRA. LETICIA MANUEL APOLINAR
INVESTIGADOR TITULAR A. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES
ENDOCRINAS (UIMEE), HE CMN SXXI, IMSS, CDMX.

CIUDAD DE MEXICO, AGOSTO 2023


Dr. Marco E. Berte Remesto¹



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.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. TERESA PÉREZ CAPISTRAN.
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA. INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.

DR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ ORDAZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CIUDAD DE MEXICO, AGOSTO 2023

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

A mi papa ya en el cielo y a mi mama en casa que siempre me han brindado su amor y apoyo incondicional poder cumplir mis objetivos personales y académicos.

A mi núcleo familiar:

Edgar por estar en este largo caminar.

Jorge, Andrea, Antonio por su compañía incondicional, día, noche y madrugadas junto a mí.

También a mi tutora Lety:

Mi ángel en este proceso, por su dedicación y paciencia, sin ella no hubiese podido lograr llegar a esta parte de la maestría. Gracias por su guía.

A todos mis docentes:

Por transmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí.

Además, a mis compañeros

Por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas.

Gracias a la UNAM y al IMSS

Instituciones que me han formado personal y académicamente.

ÍNDICE

| Parte | Página |
|--|---------------|
| 1. Abreviaturas, siglas y acrónimos | i |
| 2. Lista de tablas | ii |
| 3. Lista de figuras | iii |
| 4. Resumen | iv |
| 5. Marco teórico | 1 |
| 5.1 Epidemiología de la diabetes mellitus tipo 2 | |
| 5.2 Obesidad | |
| 5.3 Diabetes y obesidad | |
| 5.4 Disfunción endotelial | |
| 5.5 Adipocinas en la disfunción endotelial | |
| 5.6 Disfunción endotelial, obesidad y proproteína convertasa subtilisin/kexin 9 | |
| 6. Justificación | 18 |
| 7. Planteamiento del problema | 19 |
| 10.1 Pregunta de Investigación | |
| 8. Objetivos | 20 |
| 8.1 Objetivo general | |
| 8.2 Objetivos específicos | |
| 9. Hipótesis | 21 |
| 10. Material y métodos | 22 |
| 10.1 Lugar de realización | |
| 10.2 Tipo de Estudio | |
| 10.3 Población de estudio | |
| 10.4 Criterios de inclusión | |
| 10.5 Criterios de no inclusión | |
| 10.6 Criterios de eliminación | |
| 10.7 Control de sesgos | |
| 10.8 Tamaño de muestra | |
| 10.9 Variables | |
| 10.10 Descripción de procedimientos | |
| Historia clínica y mediciones antropométricas | |
| Toma de muestra de sangre total | |
| Mediciones | |
| a. Química sanguínea: glucosa y perfil de lípidos. | |

| | |
|---|-----------|
| <ul style="list-style-type: none"> b. Medición de hemoglobina glicada c. Medición de citocinas proinflamatorias determinación de adipocinas y biomarcadores de disfunción endotelial. d. Determinación de ICAM-1 y PCSK9 en plasma. | |
| 11. Análisis estadístico | 34 |
| 12. Aspectos éticos | 35 |
| 13. Cronograma de actividades | 38 |
| 14. Resultados <ul style="list-style-type: none"> 14.1 Descripción de la población de estudio 14.2 Características socio-demográficas 14.3 Tratamientos en la población de estudio y la presencia de Comorbilidades secundarias a la diabetes 14.4 Características bioquímicas de pacientes DM vs no DM 14.5 Marcadores de inflamación y daño endotelial con PCSK9 en pacientes DM vs no DM 14.6 Análisis de PCSK9 asociada a DM, HbA1, género, edad e IMC 14.7 Análisis de correlación de pcsk9 con las variables de estudio en los diferentes grupos. 14.8 Comparación de parámetros bioquímicos, PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial entre grupos 14.9 Influencia de la edad y el sexo sobre los marcadores de disfunción endotelial y PCSK9 | 39 |
| 15. Discusión | 55 |
| 16. Conclusiones | 63 |
| 17. Referencias | 64 |
| 18. Anexos <ul style="list-style-type: none"> 18.1 Autorización de proyecto 18.2 Carta de Consentimiento Informado 18.3 Hoja de recolección de datos 18.4 Difusión. Presentación de resultados parciales en congreso. 18.5 Matriz de correlación de Pacientes DM y no DM 18.6 Colaboradores | 71 |

1. ABREVIATURAS, SIGLAS, Y ACRÓNIMOS

| <i>Siglas</i> | <i>Descripción</i> |
|----------------------|--|
| ADA | American diabetes association |
| AGL | Ácidos grasos libres |
| Ang II | Angiotensina II |
| CCI | Carta de Consentimiento Informado |
| CE | Células endoteliales |
| CLIS | Comité Local de investigación en salud |
| CTOG | Curva de tolerancia oral a la glucosa |
| d | Diferencia mínima |
| DM2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| ENSANUT | Encuesta Nacional de Salud y Nutrición |
| EROS | Especies reactivas de oxígeno |
| ET-1 | Endotelina 1 |
| GLM | Modelo lineal generalizado |
| GAA | Glucosa alterada en ayuno |
| HbA1c | Hemoglobina glucosilada |
| HDL | Lipoproteínas de alta densidad |
| HTA | Hipertensión arterial |
| iPCSK9 | Inhibidor de Proproteína convertasa subtilisin/kexin 9 |
| ICAM-1 | Moléculas de adhesión intracelular 1 |
| IL-6 | Interleucina-6 |
| IMSS | Instituto Mexicano del Seguro Social |
| IRS | Insulin receptor substrates |
| LDL | Lipoproteínas de baja densidad |
| LDLoxid | Lipoproteínas de baja densidad oxidadas |
| MCP-1 | Proteína Quimiotáctica de Macrófagos 1 |
| MCSF | Factor Estimulante de la Colonia de Macrófagos |
| noDM | sujetos no diabéticos |

| | |
|--------------------------------|--|
| NO | Óxido nítrico |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| PAHO | América según la Sociedad Panamericana de la Salud |
| PCR | Proteína C reactiva |
| PCSK9 | Proproteína convertasa subtilisin/kexin 9 |
| RI | Resistencia a la insulina |
| rLDL | Receptor de lipoproteínas de baja densidad |
| ROS | Especies reactivas del oxígeno (siglas en ingles) |
| TNF-α | Factor de necrosis tumoral alfa |
| UMF | Unidad de medicina Familiar |
| VCAM | Moléculas de adhesión vascular |
| VEGF | Factor de crecimiento vascular endotelial |

2. ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla | Descripción | Página |
|----------------|---|---------------|
| Tabla 1 | Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con DM | 40 |
| Tabla 2 | Características sociodemográficas de los pacientes con DM | 41 |
| Tabla 3 | Tratamientos y comorbilidades de los pacientes con DM | 43 |
| Tabla 4 | Variables clínicas y bioquímicas de pacientes con DM y no DM. | 56 |
| Tabla 5 | TNF- α , ICAM-1, PCSK9 y leptina en pacientes con DM VS no DM. | 46 |
| Tabla 6 | Correlación de los niveles séricos de PCSK9 con las características clínicas y bioquímicas en los pacientes DM y no DM. | 50 |
| Tabla 7 | Comparación de parámetros bioquímicos, PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial entre grupos | 53 |
| Tabla 8 | Resumen del modelo multivariante sobre la influencia de la edad sobre PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial | 54 |

3. ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Descripción | Página |
|------------------|--|---------------|
| Figura 1 | Epidemiología global de la diabetes | 2 |
| Figura 2 | Datos de ENSANUT 2012-2018, porcentaje de Diabetes en México en población de 20 años en adelante | 3 |
| Figura 3 | Representación de metabolismo de lípidos | 5 |
| Figura 4 | Papel de PCSK9 en la degradación de los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL). | 8 |
| Figura 5 | Representación de adipocitos con hiperplasia en obesidad | 12 |
| Figura 6 | Representación de adipocinas y disfunción endotelial | 14 |
| Figura 7. | Mediciones de los niveles plasmáticos de PCSK9 en los pacientes con diabetes. | 48 |
| Figura 8. | Mediciones de los niveles plasmáticos de PCSK9 en los pacientes no diabéticos. Comparación de los niveles plasmáticos de PCSK9 según: (A) edad (≤ 50 años versus > 50 años), (B), Género de los diabéticos (mujeres versus hombres); (C) IMC (≤ 25 versus > 25) | 49 |
| Figura 9 | Asociación de variables LDL, ICAM-1 y Glucosa con PCSK9 en pacientes A) Diabéticos B) No diabéticos. | 51 |

4. RESUMEN

ANÁLISIS DE LA RELACION ENTRE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y PCSK9 EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

Antecedentes: La Organización Mundial de la Salud (OMS) ubica a México entre los países con alta prevalencia de obesidad asociada con diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemias, hipertensión arterial sistémica y enfermedades cardiovasculares. Es conocido que el aumento del tejido adiposo en diferentes compartimentos se asocia a un estado proinflamatorio, que promueve la disfunción endotelial. Recientes estudios han identificado a la proproteína convertasa subtilisin/kexin (PCSK9) como una proteína segregada en hepatocitos que se une a los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL) acelerando la degradación de estos receptores y elevando los niveles de LDL. Por lo que se considera importante estudiar la relación de PCSK9 con disfunción endotelial y diabetes.

Objetivo: Analizar la asociación de marcadores de disfunción endotelial con PCSK9 en pacientes con obesidad y DM2 de la UMF18 del IMSS.

Métodos: Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de obesidad y DM2 y a sujetos sanos que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, se les invitó a participar en el proyecto de investigación con la firma de la Carta de Consentimiento Informado (CCI), se realizó somatometría y toma de muestra sanguínea para realizar mediciones serológicas de marcadores de disfunción endotelial (ICAM-1, IL-6, TNF- α , leptina) y de PCSK9, una vez obtenidas las mediciones se realizó el análisis estadístico.

Resultados: Se incluyeron 182 pacientes (66 con DM2 y 116 sin DM2). En el caso de los pacientes con DM2 son sin complicaciones y menor de 10 años de evolución de DM2. Para el IMC se debe resaltar que en ambos grupos no hubo diferencias

estadísticas, se mostró en rango de obesidad; por lo cual, en el grupo sin diabetes se observó los niveles de colesterol total ($p < 0.01$) y LDL ($p < 0.001$) fueron mayores en grupo sin DM2. Los pacientes con DM2 presentaron menores niveles de HDL (37.47 ± 10 ng/mL) que los pacientes sin diabetes mellitus (52 ± 16 mg/dL) ($p < 0.001$). Para PCSK9 entre pacientes con y sin diabetes mellitus (100 ± 25 y 99 ± 25 ng/mL) no se encontraron diferencias significativas. Pero se debe destacar que los pacientes con DM2 tuvieron significativamente mayores niveles de ICAM-1 (149 ng/mL) que los pacientes sin DM2 (91 ng/mL) indicador de daño endotelial. Los niveles de TNF- α fueron significativamente mayores (10 ng/mL) en los pacientes con DM2, así también, con más de 5 años de DM2 y con edad mayor de 50 años y en comparación con los no diabéticos ($p = 0.0026$). Los niveles séricos de leptina fueron mayores en mujeres comparada con hombres; además, mostraron diferencias significativas en pacientes con y sin DM2. Los niveles séricos de PCSK9 en asociación con daño endotelial se correlacionaron con los de ICAM-1 ($p < 0.01$) y con los de leptina ($p < 0.05$).

Conclusiones: En este estudio se reporta que el binomio de la obesidad y diabetes induce el daño endotelial ya que los niveles séricos de PCSK9 se correlacionan positivamente con marcadores de disfunción endotelial como ICAM-1 y leptina. Además, se asociaron positivamente con el colesterol total, los triglicéridos y el LDL en pacientes con obesidad y DM2. Así mismo, en condiciones de diabetes con evolución de más de 5 años los parámetros de IMC, glucosa, triglicéridos, colesterol y VLDL fueron mayores en este subgrupo, por lo cual, se vincula el metabolismo de los lípidos con la activación de endotelio al mostrar que los niveles séricos de PCSK9 se asocian con disfunción endotelial. Además, se mencionan áreas de oportunidad a futuro para el estudio del mecanismo de PCSK9 en relación con otros indicadores de lípidos como HDL, VLDL y triglicéridos.

Palabras clave: Diabetes mellitus tipo 2, Disfunción endotelial, PCSK9, Colesterol, LDL, VLDL, Leptina, ICAM-1, TNF- α .

5. MARCO TEORICO

5.1 Epidemiología de la diabetes mellitus tipo 2

La Organización Mundial de la Salud (OMS), pronostica que la diabetes será la séptima causa de muerte para el año 2030. Así mismo, la OMS calculó que en el 2014 existirían aproximadamente 422 millones de personas en el mundo con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), lo que equivale a una prevalencia mundial del 8.5% en la población adulta mayor de 20 años (1). Sin embargo, ha habido un incremento progresivo en los tres últimos decenios y presenta un incremento de mayor rapidez en los países de bajos y de medianos ingresos (2,3).

La American Diabetes Association (ADA) reportó 34.2 millones de adultos con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) durante el 2018, de los cuales solo tenían diagnóstico 26.8 millones. En el caso de la población latinoamericana tuvo una prevalencia de 10.5% (4), para el 2020 la tasa de diabetes que se reportó en hispanos fue del 12.5% (5).

Con respecto a la región de América según la Sociedad Panamericana de la Salud (PAHO), existen aproximadamente 62 millones de personas padeciendo la enfermedad, con una prevalencia similar del 8.3% en población adulta (1). Por lo cual, la DM2 a nivel mundial se ha descrito como la epidemia moderna (2).

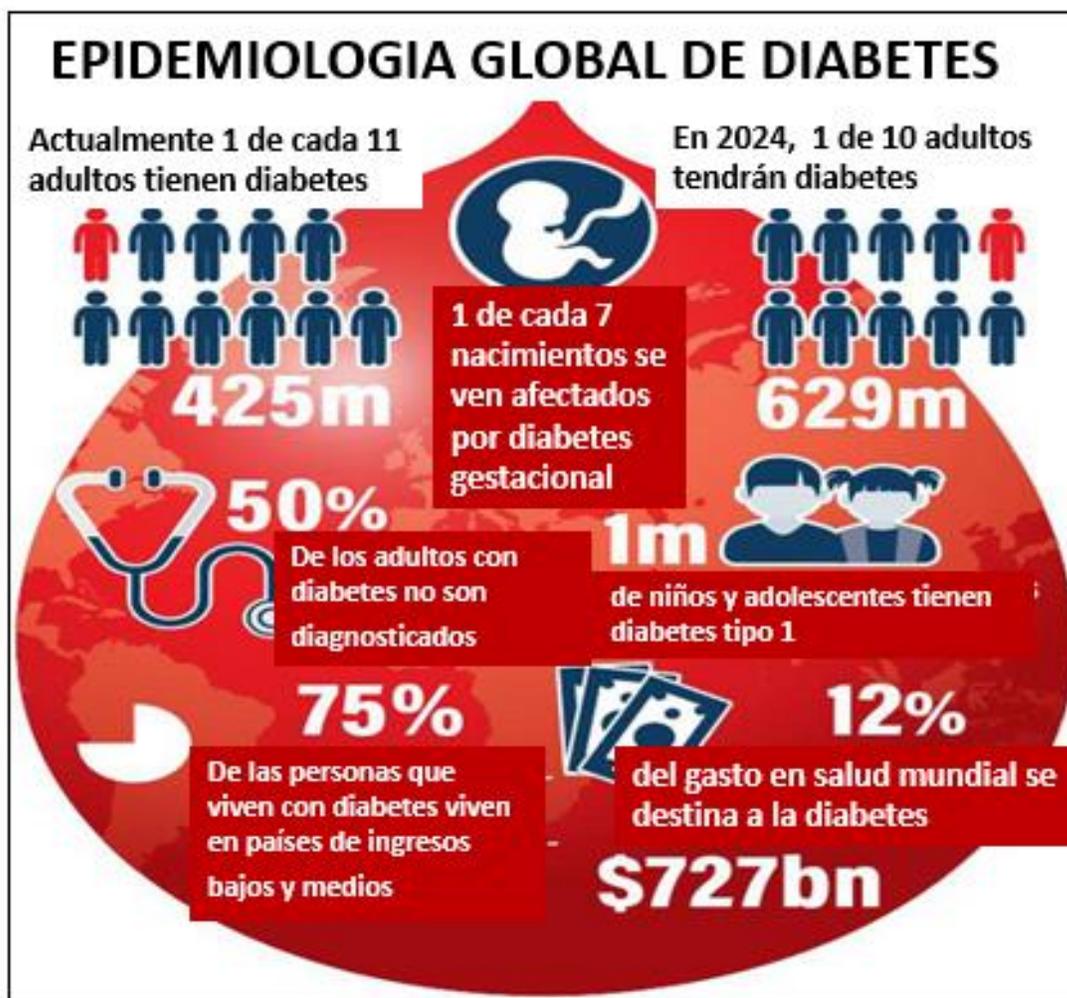
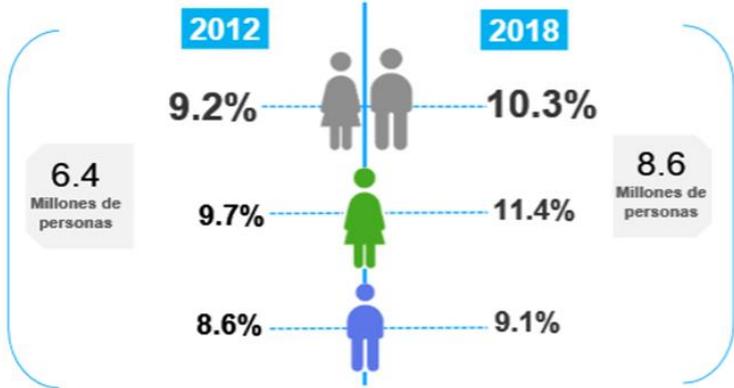


Figura 1. Epidemiología global de la diabetes (Tomado International Diabetes Federation Atlas)

En México la DM2 es un importante problema de salud pública. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2012 reportó un aumento en la prevalencia de diabetes con respecto a las encuestas anteriores. La prevalencia de prediabetes fue de 22.1%, y de diabetes diagnosticada y no diagnosticada de 12.6 y 5.8%, respectivamente, lo que resulta en una prevalencia de diabetes total de 18.3% (6). Sin embargo, estas cifras pueden ser subjetivas, ya que se desconoce la población total con glucosa alterada en ayuno (GAA), diagnóstico de prediabetes por curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) y existe una ausencia de evaluación de hemoglobina glucosilada (HbA1c) en población con diabetes. Las 5 entidades federativas con los porcentajes más altos de DM2 son los estados de Campeche, Tamaulipas, Hidalgo, Ciudad de México y Nuevo León (6).



Porcentaje de Diabetes en población de 20 años en adelante

Porcentaje de la población de 20 años y más con diagnóstico médico previo de diabetes, por entidad federativa 2018

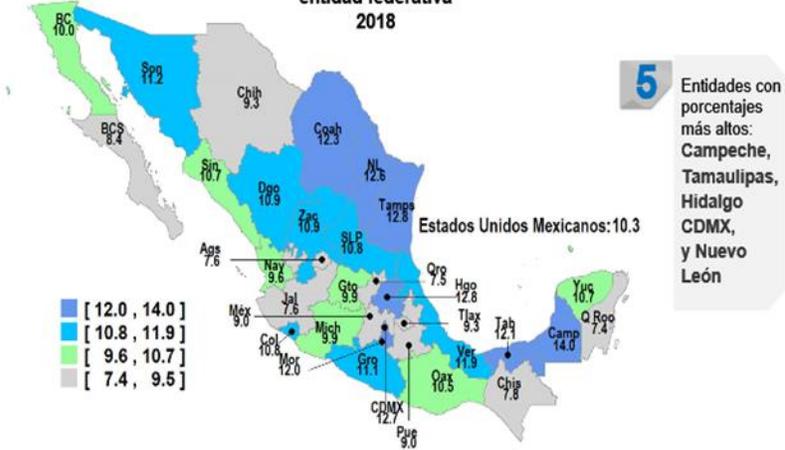


Figura 2. Datos de ENSANUT 2012-2018, porcentaje de Diabetes en México en población de 20 años en adelante

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) la DM2 constituye un reto creciente debido a que durante el 2018 la prevalencia fue del 10.5% en la población derechohabiente. Esta enfermedad ocupa el segundo lugar de demanda de la consulta de medicina familiar, el quinto lugar en la consulta de especialidades, el octavo lugar en la consulta de urgencias y como principal motivo egreso hospitalario. La DM2 es la segunda causa de muerte en el país y muestra una tendencia creciente del número de casos en los adultos mexicanos con un impacto en las complicaciones vasculares, discapacidad, incremento en la mortalidad y altos costos para el tratamiento y atención médica de los pacientes (7). Reportes indican de 5 de cada 10 pacientes en los programas de diálisis padecen DM2 y es la primera causa de los dictámenes de invalidez que corresponde al 14.3% del total. Por lo que es un tema de principal interés en el IMSS debido al alta carga directa en los costos de atención hospitalaria (7,9).

5.2 Obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como una enfermedad crónica de origen multifactorial caracterizada por acumulación excesiva de grasa corporal; generada por el desequilibrio entre el gasto de la energía y su almacenamiento como grasa, está adquiriendo las características de una auténtica pandemia, y constituye uno de los principales retos actuales para la salud pública mundial considerado por la OMS, ya que supone una enfermedad con graves consecuencias sobre la salud de quienes la padecen (15).

La obesidad se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial su magnitud, rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejerce debido a que aumenta significativamente el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles como es diabetes (15). Existen varios factores que causan la obesidad, tales como: genéticos, nutricionales, conductuales, psicológicos y sociales (10). Además la obesidad es factor de riesgos en salud, para DM2, problemas articulares, hipertensión arterial sistémica, cardiopatía, colecistopatía, ciertos tipos de cáncer

como el mamario, uterino y de colon, problemas digestivos como reflujo gastroesofágico, problemas respiratorios como apnea del sueño y enfermedad pulmonar obstructiva, con menor expectativa de vida, problemas psicológicos como depresión, infertilidad, incontinencia urinaria, efectos psicológicos incremento de riesgo de muerte, y sociales como una imagen corporal negativa para la sociedad y el paciente, mala integración social, discriminación, incapacidad en rutinas y actividades corporales, dificultad para moverse y trasladarse, dificultad para mantener una buena higiene corporal (11).

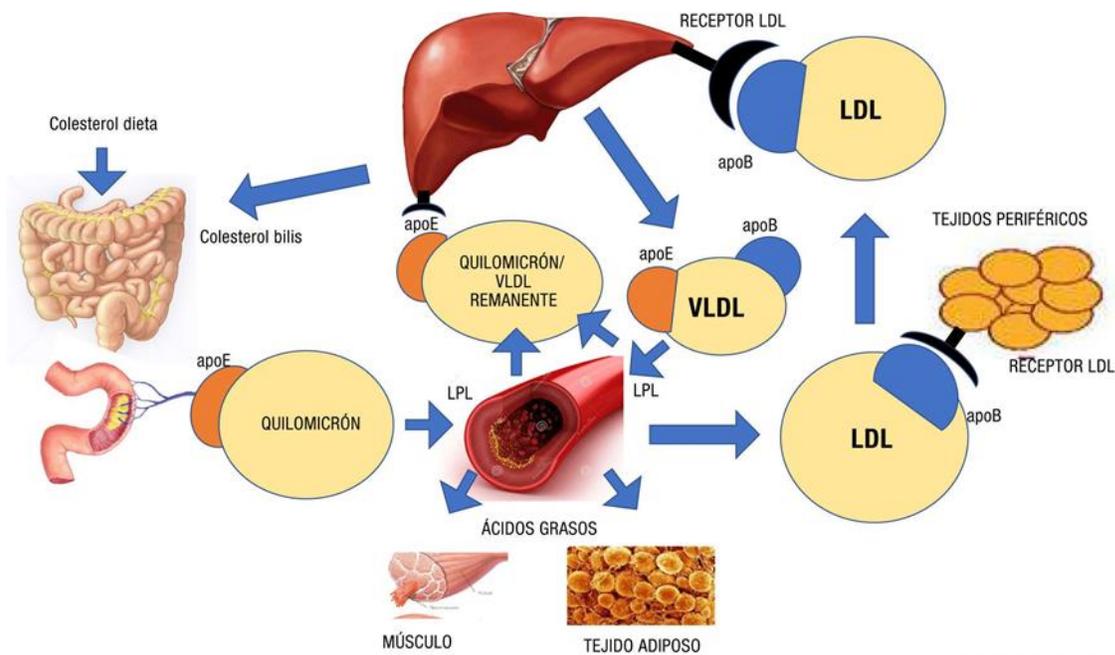


Figura 3. Representación de metabolismo de lípidos (Rev Esp Cardio 2020)

5.3 Diabetes y obesidad

Las enfermedades crónicas no transmisibles, como la obesidad, hipertensión arterial (HTA) y DM2, se han situado como uno de los mayores retos que se enfrenta a nivel global en salud. Esto es debido al gran número de casos y con esto a su creciente contribución a la mortalidad general. Dentro de este grupo de enfermedades, la DM2 tiene un lugar médico-social importante; los cambios en el comportamiento humano

y los estilos de vida en el último siglo han provocado un incremento de la incidencia mundial de diabetes, sobre todo el DM2 (2,3). Los factores genéticos son importantes en la manifestación de la resistencia a la insulina, ya que tiende a ser similar entre familiares y dentro de grupos étnicos. Asimismo, pueden presentarse factores adquiridos o ambientales, como son las dietas hipercalóricas y el sedentarismo; causando resistencia a insulina en el músculo, aumentando el contenido de triglicéridos y el adipocito visceral (16).

Las enfermedades crónicas son consideradas como un problema de salud pública por ser la causa más frecuente de incapacidad prematura, así como por su complejidad y costo elevado de su tratamiento (2,3). Dentro de este grupo de enfermedades, la diabetes tiene un lugar médico- social importante; los cambios en el comportamiento humano y los estilos de vida en el último siglo han provocado un incremento de la incidencia mundial de diabetes, sobre todo DM2 (7). La diabetes, de acuerdo a la ADA, es caracterizada por un grupo de enfermedades con un alto nivel de glucosa (hiperglucemia), resultado de defectos en la capacidad del cuerpo para producir o usar insulina (8).

A nivel celular, se sabe que el adipocito es un tejido productor de moléculas fisiológicamente activas; es sensible a los efectos de la insulina y promueve la captación de triglicéridos. En la obesidad la producción de ácidos grasos libres (AGL) aumenta originando que disminuya la utilización de glucosa como fuente primaria de energía, disminuyendo su captación periférica, lo que condiciona resistencia a la insulina e hiperinsulinismo secundario (10). Además, en estos casos, de AGL y en la resistencia a la insulina (RI) se favorecen; el aumento de la adipocinas secretadas por el adipocito como "resistina" y una disminución de "adiponectina" (recientemente se ha determinado a la isoforma de alto peso molecular de adiponectina como involucrada en el metabolismo de glucosa), las cuales inducen que el organismo no pueda aprovechar la insulina de manera adecuada, debido a que los tejidos se resisten a su acción en producir energía o

almacenarla en forma, por lo que el adipocito se deposita en órganos en donde no debería de hacerlo y ello origina DM2 (10).

Es considerado que en ambos trastornos metabólicos obesidad/DM2, se desencadena un proceso inflamatorio, siendo evidente la presencia de moléculas proinflamatorias como son: Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- α), Interleucina 6 (IL-6), leptina, resistina, proteína C reactiva (PCR), por lo que, una vez que inicia el mecanismo inflamatorio se induce, además, una disfunción endotelial: mecanismo que desencadena enfermedades cardiovasculares (10). Asimismo, la obesidad se asocia a un aumento de morbi-mortalidad cardiovascular y mayor incidencia de enfermedades tales como DM2, HTA, dislipidemia, patologías de la vesícula biliar y neoplasias (16,17,18).

De esta manera, en obesidad y diabetes como trastornos metabólicos se presenta otro mecanismo como es la disfunción endotelial, manifestándose en la anatomía microscópica de la placa ateromatosa; se producen 3 elementos importantes que dan lugar a la disfunción endotelial: partículas de Lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLoxid), macrófagos y células de músculo liso vascular que van migrado desde la capa media hacia la íntima. La presencia de LDLoxid nos indica el vínculo entre el metabolismo y la relación del adipocito y el endotelio vascular que integran el eje adipovascular. La presencia de macrófagos nos indica que el sistema inmune está involucrado en la génesis del proceso ateromatoso. Los macrófagos que provienen de los monocitos circulantes, atraviesan la pared endotelial por la acción de las moléculas de adhesión intracelular y vascular (ICAM-1 y VCAM). Estas moléculas permiten la entrada de los monocitos, que en el interior de la pared vascular se exponen a la Proteína Quimiotáctica de Macrófagos 1 (MCP-1) y al Factor Estimulante de la Colonia de Macrófagos (MCSF) y los convierten en macrófagos activados. Las células espumosas que contienen macrófagos y LDL oxidado se acumulan en la pared endotelial dando lugar a la disfunción endotelial (10,11). Estas moléculas ICAM-1 y VCAM son reconocidas como indicadores de disfunción endotelial.

Por otra parte, recientes estudios han identificado a una proteína que influye en el trastorno de metabolismo de lípidos es la proproteína convertasa subtilisin/kexin (PCSK9) que se une a los receptores de LDL (rLDL), esta unión induce a la degradación de rLDL y eleva los niveles séricos de LDL, influyendo en la aterogénesis. Por lo cual, con estos antecedentes debe considerarse analizar e identificar en los pacientes obesos (con o sin diabetes) los marcadores de disfunción endotelial (ICAM-1, VCAM), leptina, adiponectina, LDL y PCSK9 para relacionarlos con las etapas tempranas de la aterosclerosis siendo esto útil para su seguimiento y tratamiento adecuado (13,14). Figura 4

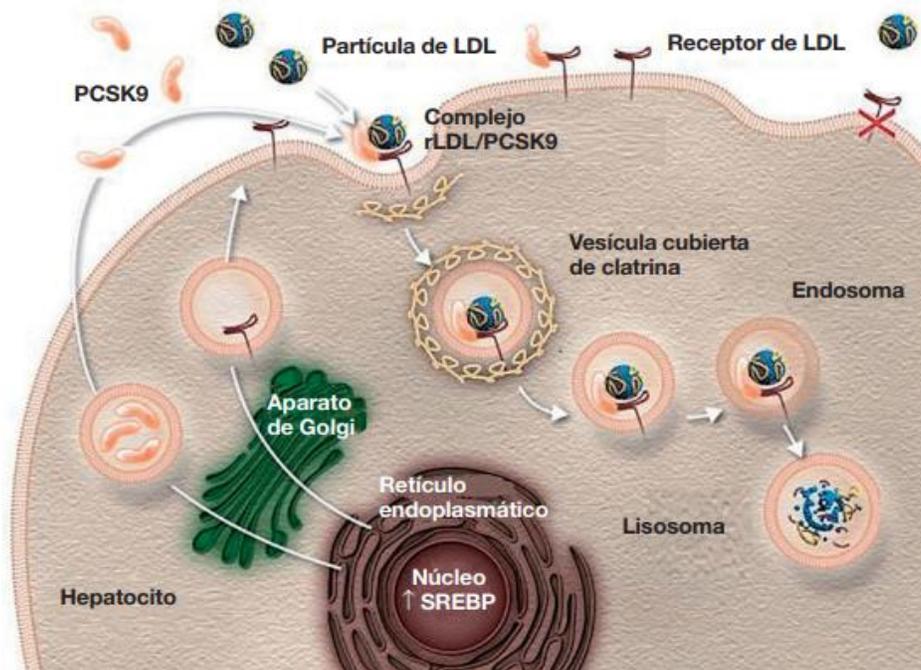


Figura 4. Papel de PCSK9 en la degradación de los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

(Tomado: Rev. Clin Investig Arterioscler, 2016)

5.4 Disfunción endotelial

El endotelio vascular es una delgada capa de células que tapiza la cara interior de las arterias y tiene un papel fundamental en la regulación de la circulación sanguínea. Se ha reconocido como el órgano más extenso e importante del cuerpo,

y está estratégicamente ubicado entre la sangre y los tejidos, formando una barrera dinámica y funcional (19). La superficie de las células endoteliales (CE) está recubierta de receptores que permiten realizar múltiples funciones, el proceso inflamatorio es la manifestación inicial de la activación y disfunción endotelial, con esto se pueden presentar enfermedades como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la sepsis, la trombosis, la vasculitis, hemorragias. Las propiedades de las CE cambian en respuesta a diversos estímulos, este proceso, conocido como activación endotelial, también es responsable de la patogenia de enfermedades vasculares, por ejemplo, la aterosclerosis (20). Las CE activadas expresan moléculas de adhesión en su superficie, producen citocinas, factores de crecimiento, moléculas vasoconstrictoras, vasodilatadoras y moléculas que controlan la coagulación de la sangre. Las CE sintetizan también compuestos vasoconstrictores como: tromboxano A₂, angiotensina II (AII) y endotelina 1 (ET-1), que son los contribuyentes principales en el mantenimiento de la tensión arterial (19).

Actualmente, se sabe que el endotelio es mucho más que una simple barrera física que separa la sangre de los tejidos subyacentes, de esta forma, sus características principales se atribuyen a el proceso inflamatorio, la vasoconstricción y en trombosis. La célula endotelial participa en todas las fases de la inflamación: produce mediadores de la vasodilatación (óxido nítrico y prostaciclina), expresa moléculas de adhesión como son ICAM, VCAM que facilitan la adherencia y trans migración de los leucocitos. En reposo, la CE es muy adherente a la lámina basal subyacente del tejido conectivo como colágeno, laminina y proteoglicanos; esta adherencia es dependiente de las integrinas. Como consecuencia de una lesión próxima se liberan citocinas proinflamatorias siendo IL-1 y TNF- α y aminas vasoactivas que incrementan el flujo sanguíneo tisular y modifican la permeabilidad endotelial. Las citocinas modifican las propiedades adhesivas de la célula endotelial, lo que permite la migración de los leucocitos hacia el sitio de la lesión, por lo cual interacciona, con el sistema inmune y de la coagulación. La inflamación es un mecanismo evolutivo conservado y cuidadosamente controlado del organismo para

luchar contra una infección y para reparar lesiones. Una respuesta inflamatoria coordinada es esencial para la vida. Sin embargo, la inflamación prolongada conlleva a enfermedades agudas y crónicas, con ello a una inflamación crónica de varios órganos. (20). Este proceso permite y promueve el rodamiento, agregación y trans migración endotelial de leucocitos, hacia el sitio de lesión endotelial. La extravasación de neutrófilos es coordinada por moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM-1, por sus siglas en inglés intercellular adhesion molecule-1), (21) molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1 por sus siglas en inglés vascular cell adhesion molecule-1), quimiocinas (IL-6) y metabolitos generados por la vía del ácido araquidónico. (22)

La vasodilatación es uno de los signos cardinales de una respuesta inflamatoria, y se produce en gran medida a través de un proceso dependiente de Óxido Nítrico (NO), (23) esta vasodilatación aumenta la permeabilidad, potenciando la producción de TNF- α e IL-1 β por parte de los leucocitos. (24) El TNF- α es una citocina pro-inflamatoria que recibió su nombre por la observación de necrosis hemorrágica en tumores trasplantados a ratones estimulados con TNF- α , se expresa principalmente en macrófagos y linfocitos, los adipocitos expresan tanto TNF- α como sus receptores, su expresión está incrementada en adipocitos de sujetos obesos y de sujetos con RI se cree que produce RI al inducir un defecto en la capacidad de fosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato del receptor de insulina (IRS-1), necesaria para la progresión de la señal intracelular de la hormona, es un mediador importante de RI en la obesidad.

Las citocinas, son pequeñas glicoproteínas liberadas por una célula y reconocidas por otras células que expresan los receptores correspondientes, éstas son los de señalización característicos y complejos en las células sensibles que conducen principales mediadores de la inflamación. Interferones, interleucinas, factores de crecimiento y quimiocinas pertenecen a la gran familia de citocinas. Todos ellos inician cascadas a una respuesta celular adecuada como la proliferación, la diferenciación o la liberación de enzimas y otros mediadores que a su vez controlan

el entorno celular y proporcionan medios para perpetuar los efectos de las citocinas. En las enfermedades inflamatorias la red de citocinas, está gravemente desequilibrada y lleva a la inflamación persistente y daño a los tejidos. (20,21)

Por otro lado, existen las especies reactivas del oxígeno (reactive oxygen species ROS, por sus siglas en inglés) este término se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. (25) Son generadas en respuesta a estímulos endógenos y exógenos. En bajas concentraciones ROS actúan como moléculas de señalización que median el crecimiento, la migración y la diferenciación celular, mientras que, a concentraciones más altas, inducen la muerte celular, la apoptosis y senescencia. (25)

Así, el término disfunción endotelial se utiliza ampliamente para describir cualquier forma de actividad anormal del endotelio, en trastornos metabólicos como obesidad y DM2, desencadenan un proceso inflamatorio siendo evidente la presencia de moléculas pro- inflamatorias como son; TNF α , IL6, leptina, resistina, PCR, las cuales inducen disfunción endotelial (25). La disfunción endotelial es un evento temprano de aterosclerosis, con cambios estructurales que preceden en la pared vascular, asimismo, en algunos estudios se han encontrado alteraciones en el grosor de la íntima media de la aorta en diferentes condiciones metabólicas, como es la obesidad; sugiriendo que estas alteraciones de la nutrición contribuyen a enfermedades cardiovasculares en la vida adulta.

5.5 Adipocinas en la disfunción endotelial

Varias investigaciones han demostrado que el adipocito produce sustancias relacionadas con el sistema inmune pueden ser proinflamatorias como son TNF α y IL-6, con la función vascular (VEGF, angiotensina, PAI 1) y con el desarrollo de resistencia insulínica (resistina). Asimismo, produce adipocinas en obesidad

incrementándose la liberación de leptina, VEGF, IL-6 y TNF α y disminuye la secreción de adiponectina (18).

La adipocina leptina posee un alto grado de homología entre especies (84% entre la leptina humana y murina). El gen *ob* está localizado en el cromosoma 7 del ser humano y en el cromosoma 6 del ratón (26). Los individuos afectados en este gen, desarrollan un cuadro de hiperfagia, obesidad mórbida e hipogonadismo hipotalámico (26). Entre las seis isoformas conocidas del receptor se encuentran ObRa-f, pero sólo ObRb contiene el segmento intracelular para la activación de las cinasas. ObRb es conocido como la forma “larga” o “completa” del receptor, la señal intracelular es mediante el sistema JAK-STAT, activa a JAK2, (27,28) lo que induce autofosforilación del complejo ObRb-JAK2, JAK2 fosforila a los dominios SH2, una vez fosforiladas, funcionan como reguladoras transcripcionales; también está asociado a las IRS (Insulin Receptor Substrates) (29,30). Además, está relacionado con NF KB que es un factor de trascrición relacionado con adiponectina, de esta manera pudiera ser la señal intracelular entre estas dos adipocinas (30,31).

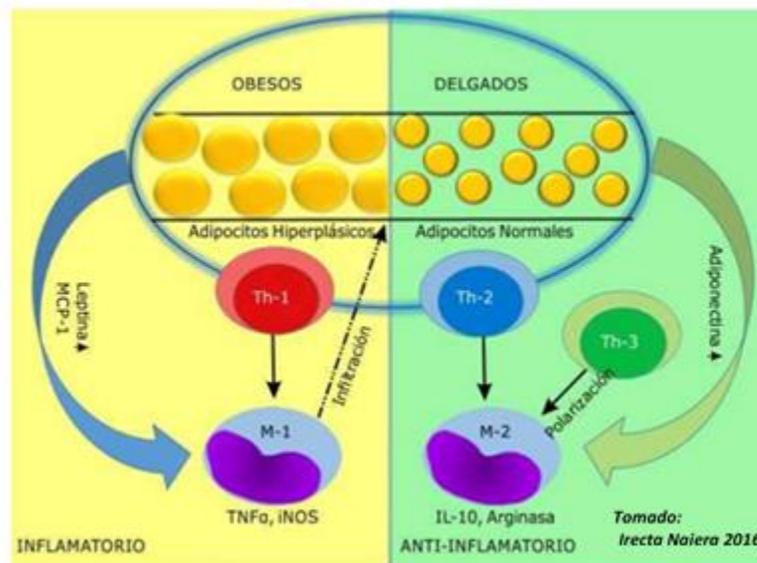


Figura 5. Representación de adipocitos con hiperplasia en obesidad (Tomado: Irecta Nolera, 2016)

Por otra parte, las asociaciones entre la leptina y la insulina han sido exploradas, debido a la coexistencia de resistencia a insulina y a leptina en obesos y por otra, a

la asociación entre obesidad como causa de DM2. En los adipocitos de rata, la leptina disminuye la unión de la insulina con sus receptores. Además, la leptina también inhibe los efectos anti-lipolítico y lipogénico de la insulina, asimismo, inhibe la producción de insulina en las células beta del páncreas, (32,34), mientras que la insulina estimula la producción de leptina en el adipocito, así, la leptina y la insulina se regulan mutuamente. A nivel de SNC, el hipotálamo tiene receptores de insulina, y se sugiere participa en la regulación de la ingesta de alimentos, en el crecimiento y diferenciación neuronal. Bruning et al., encontraron que la ausencia de receptores para insulina inducida por manipulación genética en el ratón lleva a obesidad sensible a dieta, con aumento de leptina e insulina, hipertrigliceridemia y moderada resistencia a la insulina, además, de defectos de la función gonadal. (35) Por lo cual, la leptina está involucrada en las alteraciones metabólicas relacionadas con obesidad.

Por otra parte, en endotelio la leptina se ha relacionado que actúa estimulando la angiogénesis y su posible participación en la regulación de la presión arterial, en un estudio se encontró que en ratones deficientes de leptina y su receptor, la formación de coágulos de sangre en respuesta a una lesión arterial inducida fue prolongada, aproximadamente 2 veces mayor del control. El tiempo de formación del coágulo se redujo significativamente cuando los ratones deficientes en leptina recibieron leptina de ratón recombinante. Estas investigaciones sugieren que individuos obesos con concentraciones elevadas de leptina aumentan el riesgo de trombosis vascular a través de un efecto en la agregación plaquetaria (35).

La adiponectina es otra adipocina (conocida también como Acrp30) es una proteína secretada por el adipocito con efectos protectores como es antiinflamatoria. Fue purificada del plasma como una proteína ligada a colágeno, se sabe que la concentración en suero es de 5-2 $\mu\text{g/ml}$, (10-30nM). El gen de la adiponectina se encuentra ubicado en el cromosoma 3q27, precisamente donde se ha identificado el locus susceptible para la DM2, el síndrome metabólico y la enfermedad coronaria (36,37). Por otra parte, se han identificado 4 mutaciones de código erróneo en el

dominio globular de la adiponectina y la más frecuente de ellas está asociada con las bajas concentraciones plasmáticas de adiponectina, en los individuos portadores de esta mutación mostraron características del síndrome metabólico como hipertensión, hiperlipidemia, diabetes y aterosclerosis (38).

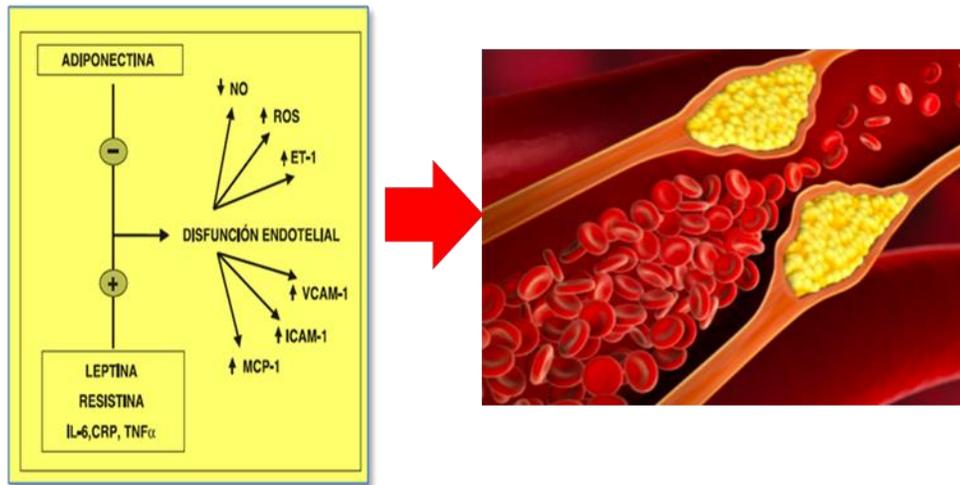


Figura 6. Representación de adipocinas y disfunción endotelial (<https://medicinaysaludpublica.com/>).

La expresión de ARNm de Acp30 y los niveles plasmáticos están significativamente reducidos tanto en ratones como en seres humanos obesos y diabéticos. Berg et al. 2001, encontraron que los niveles séricos de Acp30 están disminuidos en forma significativa tanto en la obesidad como en la DM2, sugiriendo que tienen relación con la RI (39).

En estudios *in vitro*, se ha demostrado que la adiponectina regula la expresión de citocinas anti- inflamatorias como: IL-10 e IL-1Ra mediante la activación del receptor gamma proliferador de peroxisoma 2 (PPAR γ) (40). Por otra parte, citocinas pro-inflamatorias como IL-6 y el TNF α demuestran inhibición de la expresión y síntesis de adiponectina. Además, el tratamiento de células endoteliales con concentraciones de adiponectina inhibe la adhesión de monocitos inducida por TNF α y la expresión endotelial de selectina E, molécula de adhesión celular vascular-1 (Vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) y molécula de adhesión

intercelular-1 (Intercellular adhesión molecul-1, ICAM-1) (38). Además, en estos estudios *in vitro*, se ha determinado que adiponectina regula la expresión de citocinas proinflamatorias como el TNF α y citocinas antiinflamatorias como: IL-10 e IL-1Ra. Asimismo, en algunos otros estudios IL-6 y el TNF- α demuestran inhibición de la expresión y síntesis de adiponectina. Posiblemente es a través de un mecanismo que adiponectina inhibe la expresión de moléculas de adhesión mediante la inhibición de NF- κ B (factor de transcripción) (24).

5.6 Disfunción endotelial, obesidad y proproteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9

Algunos estudios revelan la asociación de moléculas de inflamación y adipocinas con la manifestación de cambios cardiovasculares. En estudios clínicos, (37) se ha reportado que los pacientes con DM2 presentaban niveles de adiponectina menores cuando manifestaban enfermedad arterial coronaria asociada y en otro estudio (39), reportaron una asociación negativa entre los niveles de adiponectina y la presencia de disfunción endotelial (37).

El tejido adiposo se caracteriza por una extensa red vascular, ya que cada adipocito está rodeado de al menos un capilar, células endoteliales y de formas maduras e inmaduras de adipocito. El crecimiento del tejido adiposo blanco requiere la remodelación continua de la red vascular. De este modo, la expansión de este tejido se basa en la neovascularización, en la dilatación y remodelación de los capilares preexistentes. Por otra parte, el tejido adiposo pardo, asociado con el metabolismo energético, necesita de una perfusión adecuada, ya que su expansión depende de modo esencial de la angiogénesis. Se estima que la mayor parte de la angiogénesis en el tejido adiposo se relaciona con el sistema formado por el factor de crecimiento vascular endotelial y su receptor (VEGF/VEGFR) (24,41).

Además, la obesidad es asociada con otras condiciones tales como resistencia a la insulina, hipertensión y dislipidemia, todos estos factores de riesgo de cardiopatía, el aumento del tejido adiposo se asocia a un estado proinflamatorio, que interfiere con el metabolismo celular en varios tejidos. Recientes estudios han identificado a una proteína que influye en el trastorno de metabolismo de lípidos, la proproteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9 (PCSK9) que se une a los receptores de lipoproteínas de baja densidad rLDL acelerando su degradación y eleva los niveles séricos de LDL influyendo en la aterogénesis (15,42).

En condiciones fisiológicas, en el núcleo del hepatocito se producen rLDL, que son liberados a la superficie celular. Estos receptores específicos capturan el LDL circulante y lo internalizan en el hepatocito mediante un proceso de endocitosis; este LDL se destruye en los lisosomas, liberando el rLDL, que se recicla y vuelve a desplazarse a la superficie del hepatocito, donde puede capturar otra molécula de LDL. En el núcleo del hepatocito se produce otra proteína, la PCSK9, que también se secreta al exterior celular, donde se une a los receptores del LDL. Este complejo formado por el receptor de LDL y la proteína PCSK9 (rLDL-PCSK9) sufre el mismo proceso de endocitosis, pero se degrada en su conjunto en el interior de los lisosomas; es decir, no se realiza el reciclado del receptor de LDL a la superficie del hepatocito. En cierto modo, la proteína PCSK9 es un mediador de la degradación de los rLDL, con el fin de ahorrar LDL. Sin embargo, al manifestarse un exceso de lípidos como son enfermedades metabólicas; obesidad, dislipidemias y diabetes, se pierde el equilibrio de la degradación de LDL (42). La mayor o menor producción de proteína PCSK9 está determinada por varios factores, especialmente mutaciones genéticas, y puede estar aumentada o disminuida. Cuando está aumentada, como en el caso de la hipercolesterolemia familiar, se reduce el número de receptores de LDL en la membrana del hepatocito, por lo que aumentan la concentración plasmática de LDL y las manifestaciones clínicas de aterosclerosis (42)

Sin embargo, la hipercolesterolemia es uno de los más importantes factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, y no siempre es posible controlarla con

los tratamientos convencionales: dieta, ejercicio y fármacos hipolipemiantes. El desarrollo de la inhibición de la proteína PCSK9 mediante anticuerpos monoclonales (inhibidores de PCSK9, iPCSK9) aumenta el número de receptores de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad LDL en el hepatocito y, por lo tanto, contribuye a su destrucción. El desarrollo de investigación básica y clínica, la aprobación por las autoridades reguladoras y la comercialización de los iPCSK9 se realizó en un tiempo récord. En el año 2003, la hipercolesterolemia familiar se asoció con una mutación de la proteína PCSK9, cuya estructura quedó determinada en 2007 (12,41,42)

Dado que la inflamación es un elemento importante en la relación entre los lípidos y el endotelio la identificación de moléculas clave fundamentales que unen el metabolismo de los lípidos, la disfunción endotelial y la aterogénesis proporcionará evidencia para probar objetivos valiosos para la predicción, prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas con la aterosclerosis, en estudios posteriores.

6. JUSTIFICACIÓN

En el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) constituye un reto creciente debido a que durante el 2022 la prevalencia fue del 18.3 % en la población nacional. Otro de los problemas prioritarios de salud lo constituyen los trastornos del metabolismo, siendo de una magnitud y causa tan frecuente que desencadena alteraciones como son la obesidad y DM2, condicionando inflamación, elemento importante en la relación entre los lípidos y el endotelio causales de riesgo de enfermedades cardiovasculares y principal causa de mortalidad mundial.

Recientes estudios trascendentes han identificado a una proteína que influye en el trastorno de metabolismo de lípidos llamada proproteína convertasa subtilisin/kexin tipo 9 (PCSK9), la cual ha sido reconocida como un regulador fundamental de LDL-C. ya que se une a los receptores de lipoproteínas de baja densidad acelerando su degradación y elevando los niveles séricos de LDL influyendo en la aterogénesis. Posiblemente este mecanismo participe en desarrollo de complicaciones de la diabetes.

Por dichos antecedentes debe considerarse analizar e identificar de manera oportuna en los pacientes con DM tipo 2 obesos y no obesos, moléculas clave fundamentales relacionadas con el metabolismo de los lípidos, la disfunción endotelial y la aterogénesis, como lo son ICAM-1, leptina, IL 6, TNF- α y leptina y su asociación con PCSK9 contribuyendo con esto al conocimiento y proporcionando evidencia para probar objetivos valiosos para la predicción, prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas con la aterosclerosis, en estudios posteriores.

7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconocen los cambios inducidos por la obesidad y diabetes en los indicadores de daño endotelial y su relación con PCSK9, su identificación temprana nos permitirá conocer de manera oportuna en pacientes obesos y diabéticos de mediano plazo de evolución a los pacientes con marcadores de disfunción endotelial alterados y como se relacionaron con PCSK9, una vez conociendo esta relación se podrá incidir en estudios posteriores en la predicción, prevención y tratamiento de enfermedades relacionadas con la aterosclerosis.

7. 1 PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuáles es la relación entre disfunción endotelial y PCSK9 en pacientes con obesidad y diabetes mellitus tipo 2

8. OBJETIVOS

8.1 Objetivo general

Evaluar la relación de marcadores de disfunción endotelial (ICAM-1, IL-6, TNF- α y leptina) con PCSK9 en pacientes con obesidad y DM2 de la UMF18 del IMSS.

8.2 Objetivos específicos

- ❖ Cuantificar los marcadores de disfunción endotelial, mediante ICAM-1, IL-6, TNF- α y leptina en pacientes con y sin Obesidad y DM2.
- ❖ Analizar la asociación de los marcadores de disfunción endotelial, mediante las concentraciones de ICAM, IL-6, TNF- α y leptina en pacientes con Obesidad/DM2 y comparar en sujetos sin obesidad y sin DM2.
- ❖ Identificar los factores asociados como la edad y género que influyan en la asociación o no asociación Obesidad/DM vs Disfunción endotelial.

12. HIPOTESIS

Los pacientes con binomio obesidad y diabetes mellitus tipo 2 presentaran marcadores de disfunción endotelial aumentados con disminución de PCSK9.

10. MATERIAL Y METODOS

10.1 Lugar de realización:

El proyecto se llevó a cabo con la colaboración de dos unidades:

- Unidad de Medicina Familiar 18. Instituto Mexicano del Seguro Social

Dirección: Av. México No. 98 Entre Av. Toluca Col. Santa Teresa Contreras C.P. 10700, Ciudad de México

- Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dirección: Avenida Cuauhtémoc Número 330 Colonia Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, Código Postal 06720, Ciudad de México.

10.2 Tipo de Estudio

Diseño del estudio:

- Por el control de la maniobra de intervención por el investigador: Descriptivo
- Por las mediciones realizadas a la población de estudio: Transversal
- Por la recolección de la información: Prolectivo.
- Tipo de análisis: Comparativo.
- Por el tipo de muestreo: No probabilístico (por conveniencia, de casos consecutivos).

10.3 Población de estudio.

Pacientes de la consulta externa de UMF No. 18 IMSS con diagnóstico de DM y pacientes “sanos” que acudieron a donación de sangre en el Banco Central de Sangre de CMN SXXI.

10.4 Criterios de inclusión.

Pacientes con DM.

- Pacientes mayores de 18 años, de ambos géneros.
- Pacientes que cumplieron con los criterios diagnósticos de obesidad y DM2, y que tuvieron entre 5 a 10 años de evolución.
- Pacientes sin más comorbilidades.
- Pacientes no embarazadas.
- Pacientes que se encontraron en tratamiento y seguimiento en la UMF 18.

Pacientes sin DM.

- Pacientes mayores de 18 años, de ambos géneros, sin morbilidades asociadas que acudieron a donación de sangre en el Banco Central de Sangre de CMN SXXI.

10.5 Criterios de no inclusión

- Pacientes con morbilidades.
- Pacientes embarazadas.

10.6 Criterios de eliminación.

- Pacientes que no desearon continuar en el proyecto.
- Pacientes que por alguna razón no pudieron contar con los exámenes químicos necesarios para los fines del estudio.

10.7 Control de sesgos

Para el control de sesgos en cuanto a selección de los participantes se respetaron los criterios de inclusión y no inclusión para la integración de los sujetos al estudio, en este caso serán pacientes que acudan a la UMF18 y pacientes sanos del BCS CMN SXXI

Para evitar sesgo en la recolección de datos se realizará capacitación al personal involucrado para que los registros de información se lleven a cabo de manera correcta y homogénea en la hoja de registro de datos que se presenta como anexo. En cuanto a los sesgos de información y análisis, este se realizará por personal capacitado para evitar codificaciones erróneas, también se realizarán análisis descriptivo para las variables cuantitativas continuas mismas que serán reportadas de acuerdo a su distribución.

Finalmente hay que tener en cuenta las interpretaciones erróneas de los resultados, por ejemplo, por la presencia de variables de confusión no contempladas mismas que valoraremos una vez procesada la información y se consideraran sus comentarios en la discusión de resultados.

10.8 Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra se calculó con base a la comparación de medias entre grupo control y diabético con DE (varianza o desviación estándar) de la glucemia de 15mg/dL (S); considerando una relación sano/diabetes de 1/1, teniendo en cuenta un valor $\alpha=0.05$ y un valor de $\beta=0.20$, la diferencia mínima (d) de las medias que se consideró relevante entre los dos grupos, es de 9 mg/dL. El tipo de contraste planteado es unilateral, y para datos independientes, utilizando la fórmula

$$n = \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 S^2}{d^2}$$

Donde:

$Z\alpha$ = Valor Z de $\alpha=0.05$, Valor de confianza de 95% = 1.64 $Z\beta$ = Valor Z de $\beta=0.20$ poder de la prueba de 80% = 0.842

S = DE de Sano y con diabetes sea de 15mg/dL.

d = Valor de las diferencias relevante, se considera de 9mg/dL N = Número de participantes

$$N = \frac{2(1.64+0.84)^2 * 15^2}{9^2} = \frac{12.30 * 225}{81} = \frac{2767.5}{81} = 34.16$$

Tamaño de muestra por grupo = 35 participantes por grupo

10.9 Variables de estudio.

| Variable independiente | Definición conceptual | Definición operacional | Tipo | Unidad de medición |
|------------------------|--|--|--------------|--------------------|
| PCSK9 | Proteína enzimática presente en la sangre con actividad endoproteasa (proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9) | Se registrará el valor obtenido por el equipo analizador con técnica ELISA | Cuantitativa | ng/ml |
| Variable dependiente | Definición conceptual | Definición operacional | Tipo | Unidad de medición |
| ICAM-1 | Moléculas de adhesión Intracelular 1 | Se registrará el valor obtenido por el equipo analizador con técnica ELISA | Cuantitativa | ng/mL |
| TNF- α | Es una citosina proinflamatoria involucrada en la regulación de la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo óseo, metabolismo de lípidos y coagulación. apoptosis, metabolismo óseo, metabolismo de lípidos y coagulación | Se registrará el valor obtenido por el equipo analizador con técnica ELISA | Cuantitativa | pg/mL |
| IL-6 | Es una glucoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF- α . Es una citocina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria | Se registrará el valor obtenido por el equipo analizador con técnica ELISA | Cuantitativa | pg/mL |
| Leptina | Hormona del adipocito que actúa como un adipostato, regulando el apetito. | Se registrará el valor obtenido por el equipo analizador con técnica ELISA | Cuantitativa | ng/mL |

Otras variables a considerar.

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | de Escala de medición |
|--------------------------|---|--|--|-----------------------|
| Obesidad | Estado patológico que se caracteriza por un exceso o una acumulación excesiva y general de grasa en el cuerpo | Peso/talla ² Sobrepeso IMC igual o superior a 25. Obesidad: IMC igual o superior a 30. | 1 normopeso 2 sobrepeso 3 obesidad | Cualitativa nominal |
| Diabetes Mellitus | Alteración metabólica caracterizada por la presencia de hiperglucemia crónica que se acompaña, en mayor o menor medida, de modificaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, de las proteínas y de los lípidos | Criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) publicados en el 2017 para la clasificación de las alteraciones en el metabolismo de la glucosa. 1. Glucosa en ayunas alterada, GAA : glucemia en ayunas entre 5,6-6,9 mmol/l (100-125 mg/dl). 2. Tolerancia a la glucosa alterada, TGA (IGT): glucemia a los 120 min de la PTGO entre 7,8-11,0 mmol/l (140-199 mg/dl). 3. glucosa mayor de 125 mg/dl Valores obtenidos por el analizador | 0: normal 1: GAA 2: ICHO 3: DM | Cuantitativa continua |

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
|-------------------------|--|--|----------------------------|---------------------------------|
| Edad. | Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo | Tiempo transcurrido desde el nacimiento | Años | Cuantitativa continua. |
| Sexo | Género al que pertenece el paciente | Género al que pertenece el paciente: hombre o mujer. | 1 masculino 2 femenino. | Cualitativa nominal dicotómica. |
| Peso | Mide la masa corporal total de un individuo | Valor obtenido de medir la masa corporal en una báscula calibrada Sin zapatos | Kg | Cuantitativa continua |
| Talla | Mide el tamaño del individuo desde la coronilla de la cabeza hasta los pies | Valor obtenido al medir al individuo desde la coronilla hasta los talones en posición de pie , con estadímetro, sin zapatos. | m | Cuantitativa continua |
| Colesterol LDL | Lipoproteínas de baja densidad | Valor obtenido con equipo de análisis clínico | mg/dl | Cuantitativa continua |
| Hemoglobina glucosilada | Prueba que utiliza la fracción de la hemoglobina que interacciona combinándose con la glucosa circulante, para determinar el valor promedio de la glucemia en las últimas 12 semanas | Valor obtenido con equipo de análisis clínico | % | Cuantitativa continua |

10. 10 Descripción de Procedimientos

Historia clínica y mediciones antropométricas

En el presente un estudio en el que se incluyeron 182 pacientes mexicanos mayores de 18 años de edad, divididos en 2 grupos, un grupo de casos que incluyó 66 pacientes pertenecientes a la clínica de Unidad de Medicina Familiar número 18 del IMSS, con criterios de diabetes mellitus, siempre y cuando esta última se encontrara con un tiempo de evolución de menos de 10 años. Así mismo se incluyeron un total de 60 pacientes en el grupo de control provenientes del banco de sangre de Centro Médico SXXI, con índice de masa corporal ≤ 25 kg/m² clasificados como peso normal según criterios de la OMS, sin otra enfermedad crónica degenerativa asociada. En ambos grupos los pacientes autorizaron su participación firmando una carta de consentimiento informado, y se realizó una historia clínica completa y detallada de sus antecedentes, con la finalidad de detectar si existía diagnóstico o comorbilidad de alguna otra enfermedad que pudiera modificar la expresión de biomarcadores de disfunción endotelial como enfermedades pulmonares (EPOC), o la presencia de enfermedades autoinmunes, mismos que no fueron incluidos. El proyecto fue aceptado por el Comité de Investigación y Ética en el Comité con el número de registro de R-2021-3703-132. (Anexo 21.1)

Toma de muestra de sangre total

Una vez que los participantes firmaron CCI, se citaron a los pacientes candidatos a toma de muestra, con un ayuno de 8 horas, se obtuvo muestras de sangre por 5 ml por tubo, mediante tubo vacutainer®; se utilizaron tubos con EDTA como anticoagulante y sin anticoagulante para suero. Las muestras de sangre, las muestras inmediatamente fueron centrifugadas a 3000rpm durante 10 minutos. El plasma y suero fueron separados, así también, separando alícuotas y almacenando en ultracongelador a -70°C hasta su análisis, el cual se realizó en el laboratorio de

la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endócrinas de la UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI.

Mediciones

a. Química sanguínea: glucosa y perfil de lípidos.

Con el suero de las muestras se hizo a determinación de glucosa plasmática de acuerdo al método de la glucosa oxidasa por kit de SPINREACT (catalogo GOD-POD M41011, Marca Spinreact) el cual se ha aceptado como método de referencia para la determinación de glucosa. Este método cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico; considerándose como niveles de glucosa en ayuno normales por debajo 100 mg/dL, entre 100 a 125 mg/dL como glucosa plasmática en ayuno alterada y por arriba de 126mg/dL criterios para diabetes mellitus, así mismo para aquellos pacientes que fueron incluidos con criterios de diabetes mellitus se consideró niveles entre 70–130 mg/dL en ayuno para definir un adecuado control de metas, todo esto según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes del 2010 (20).

Se realizó la determinación del perfil de lípidos que incluyó determinaciones de Colesterol Total (catalogo M41021, Marca Spinreact), triglicéridos (catalogo M41031, Marca Spinreact), lipoproteínas de alta (HDL) (catalogo 1001095, Marca Spinreact) y baja densidad LDL , tomando como rango de referencia niveles para colesterol HDL menores a 40mg/dL como anormales y por arriba de 60mg/dL con efecto cardioprotector, sugiriéndose el uso de 150 mg/dL como punto de corte para el diagnóstico de hipertrigliceridemia y se consideró al colesterol LDL como óptimo si era < 100 mg/dL, cercano al óptimo si se encontraba entre 100 y 129 mg/dL, limítrofe entre 130 y 159 mg/dL, alto entre 160 y 189 mg/dL y muy alto si era mayor de 190 mg/dL según criterios obtenidos del ATP III.

b. Medición de hemoglobina glicada

Para la determinación cuantitativa de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en sangre humana se realizó el método de turbidimetría que tiene el fundamento de la interacción de antígeno y anticuerpo para determinar directamente HbA1c en sangre total (catalogo 43101, 43105, Marca Spinreact). La hemoglobina total y HbA1c tienen la misma absorción inespecífica para las partículas de látex. Cuando se añade el anticuerpo monoclonal antiHbA1c, se forma el complejo látex -HbA1c-anticuerpo de HbA1c. Se produce aglutinación cuando el anticuerpo policlonal IgG interacciona con el anticuerpo monoclonal. La cantidad de aglutinación es proporcional a la cantidad de HbA1c absorbida en la superficie de las partículas de látex. La cantidad de aglutinación se mide como absorbancia. El valor de HbA1c se obtiene de la curva de calibración. Valores recomendados: inferior al 6% para personas que no tengan diabetes, inferior a 7% para control glicémico de persona con diagnóstico de diabetes.

c. Medición de citocinas proinflamatorias

Para TNF- α (R&D system), considerada como proinflamatorio, se realizó determinación mediante la técnica de ELISA. Obteniéndose coeficientes de variación intra e interensayo de menos del 10%, los niveles normales de dicha citocina son considerados hasta 4.2 pg/ml.

d. Determinación de adipocinas y biomarcadores de disfunción endotelial.

Para leptina mediante un kit ELISA Human Leptin R&D system, catalogo RL-83K, considerando los niveles séricos de leptina en personas con peso normal oscilan en el rango de 1-15 ng/ml, existiendo niveles más elevados en la mujer que el hombre; aunque en individuos con un IMC superior a 30 se pueden encontrar valores de 30 ng/mL o incluso superiores.

Para la medición de leptina en plasma se hizo mediante ELISA, se diluyó el buffer de lavado en 900 ml de agua destilada, posteriormente con el buffer de lavado (50mM Tris, con tween-20) se realizaron 3 lavados a la placa, en cada lavado se pusieron 300µl por pozo, después se adiciono por duplicado 40µl de buffer de ensayo (0.05 M fosfosalina, pH 7.4, 0.025 M EDTA, 0.08% de azida de sodio, 0.05% Triton X-100 y 1% BSA) para el blanco y para las muestras y 30µl para la curva estándar, enseguida se le agrego al blanco y a la curva estándar 10µl de solución matrix (0.08% de azida de sodio), agregando también en orden ascendente de concentración 10µl de los estándares de leptina (0.2-30 ng/mL) en los pozos de la placa de 96 pozos.

Posteriormente se añadió 10µl de las muestras de plasma de cada muestra por grupo, después se colocó en todos los pozos 50µl de anticuerpo de leptina y se puso a incubar a temperatura ambiente durante 2 horas en un agitador de placa.

Al término de la incubación se decantó la placa para remover los residuos realizando nuevamente 3 lavados agregando 300µl por pozo, posteriormente del lavado se agregó 100µl del anticuerpo de detección (Ab-biotina) para leptina en todos los pozos, y con una incubación en el agitador durante 1 hora a temperatura ambiente, terminado el proceso se decantó la placa y se realizaron 3 lavados con 300µl por pozo, colocando después a todos los pozos 100µl de la solución de la enzima (conjugado de streptavidina peroxidasa de rábano, HRP) incubando durante 30 minutos a temperatura ambiente, realizando esta vez 6 lavados con 300µl por pozo, terminado el lavado se agregó 100µl del substrato (tetrametilbenzidina en buffer, sensible a la luz) a cada pozo protegiendo la placa de la luz con papel aluminio se puso a incubar durante 15 minutos, acabando la incubación se agregó 100µl de la solución stop (0.3M HCl), posteriormente se leyó la absorbancia a 450 nm y a 540 nm, mediante un lector de ELISA (Labsystems Multiskan Ex).

e. Determinación de ICAM-1 y PCSK9 en plasma.

Para la determinación de ICAM 1 se realizó mediante reactivo ICAM-1 Human ELISA Kit, Catalogo OKEH00073, AVIVA System. (Se describe la técnica en los párrafos anteriores)

Para la determinación de PCSK9 se utilizó el Kit Human PCSK9 ELISA Catalogo OKBB00903, AVIVA System. (Se describe la técnica en los párrafos anteriores)

En la siguiente tabla se resumen cada una de las mediciones, sensibilidad y coeficiente de variación, así como las condiciones de ensayo para la cuantificación de cada proteína.

| Descripción de los ensayos de ELISA | | | |
|--|--|-----------------|--|
| Análisis | Marca y catalogo | Unidades | Coefficiente de Variación (%) |
| ICAM-1 Dilución 1:10 | ICAM-1 Human ELISA Kit, Catalogo OKEH00073, AVIVA System | ng/mL | intraensayo CV < 9 sensibilidad 2.17 ng/mL |
| Leptina | Leptin ELISA Human kit, catalogo DY398, R&D system | ng/mL | intraensayo CV < 7 sensibilidad 2 pg/mL |
| Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) Dilución 1:10 | Kit Human PCSK9 ELISA Catalogo OKBB00903 AVIVA System | ng/mL | intraensayo CV < 7 sensibilidad 1ng/mL |

11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los pacientes fueron evaluados, recogiendo datos de expediente clínico y datos generales, Se obtuvo una base de datos de las variables de estudio, en donde se realiza estadística descriptiva. Además, se analizará una comparación de medias entre grupos mediante t-student y chi-cuadrada (o exacta de Fisher). Se realizará un subanálisis entre los grupos de estudio utilizando ANOVA, correlación de Spearman o Pearson según la distribución normal. Además de regresión múltiple.

Se utilizará una confianza estadística del 95% y una potencia del 80%. La significancia estadística será de $p \leq 0.05$. Los datos serán analizados con el programa SPSS (versión 23; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) y GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

12. ASPECTOS ÉTICOS

Este proyecto se aprobó (Anexo 21.1) y siguió las recomendaciones del Comité Local de investigación en salud (CLIS) del IMSS, se contempló a los pacientes que ingresaron al protocolo explicándoles en que consistió el estudio y firma de carta de consentimiento informado (CCI, Anexo 21.2), además, los datos personales de los pacientes no fueron utilizados en ningún caso.

Riesgo para el sujeto de estudio. Las pruebas realizadas fueron pruebas no invasivas. De acuerdo al artículo 17 apartado II. del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación:

El riesgo fue mínimo ya que los pacientes fueron sometidos a la obtención de muestra de laboratorio que suelen ser de rutina en laboratorio clínico para el control de metas de diabetes (artículo 17 fracción II), por lo que el balance riesgo-beneficio se inclinó hacia el beneficio individual, social y científico. El consentimiento informado fue elaborado por el investigador, fue firmado por dos testigos y se extendió por duplicado (artículo 22 y NOM 04).

Se consideró como riesgo de la investigación “a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio”, por lo que el presente proyecto se pudo clasificar como estudio clase II, con riesgo mínimo.

Apego a normas éticas: El presente trabajo y los procedimientos de investigación propuestos se apegaron al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y a las normas éticas de la declaración de Helsinki de acuerdo a la última enmienda realizada durante la 64ª Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en el año 2013, así mismo se respetaron las normas de la Declaración de Helsinki, revisada en 1983, Informe Belmont, Código de

Núremberg, CIOMS, respecto a las normas de ética en la investigación en seres humanos.

Manera de seleccionar a los potenciales participantes. Se invitó y seleccionaron a los pacientes que acudieron a consulta de la Unidad de Medicina Familiar número 18, con diagnóstico de obesidad y diabetes.

Consentimiento informado: Todos los pacientes incluidos en el estudio debieron entender y autorizar su participación a través de un consentimiento informado mismo documentos en que se utilizó un lenguaje accesible para los participantes, poniendo de manifiesto su libre decisión de participar o permanecer en el estudio sin que esto afecte la atención que recibe dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Proceso para la obtención del consentimiento informado: Se solicitó el día de la consulta por el investigador o colaboradores, quienes le explicaron al paciente la finalidad del estudio, así como, los procedimientos o estudios que se llevaron a cabo, y posteriormente se le reportaron los resultados obtenidos. Fue importante mencionar que el investigador responsable no formó parte del equipo de trabajo encargado del manejo y la atención habitual de los pacientes.

Contribuciones y beneficios a los participantes: La participación de los pacientes en el estudio no generó ningún beneficio económico para los participantes, aunque los pacientes no recibieron un beneficio directo, contribuyeron en el avance del conocimiento científico que ayudó a otros pacientes con la misma condición clínica en el futuro.

Balance riesgo/beneficio: El riesgo para los pacientes fue mínimo ya que los procedimientos realizados fueron estudios no invasivos, los estudios de laboratorio son parte de la evaluación habitual de cada paciente. Y el beneficio del presente

estudio, fue lograr a determinar asociación de marcadores de disfunción endotelial de manera oportuna, antes de que el paciente presente complicaciones crónicas.

Procedimientos a seguir para garantizar la confidencialidad de la información: Se utilizaron iniciales para el registro de cada paciente, los datos sólo fueron utilizados por el investigador principal, y se mantuvieron en un archivero bajo llave.

Confidencialidad de la información: La información de los pacientes que aceptaron participar en el estudio fue mantenida en confidencialidad total. A cada uno de los participantes se le asignó un número de folio con el cual fue identificado a lo largo del estudio. Los datos obtenidos y los folios generados en el estudio, solo fueron accesibles a los investigadores responsables en el protocolo, quienes manifestaron su obligación de no revelar la identidad de los participantes durante la realización del estudio y durante la difusión de los resultados.

Conflicto de intereses. Los autores declararon que no hay conflicto de interés en el protocolo realizado. Además, de que los recursos para la elaboración del proyecto fueron otorgados por el IMSS.

Se solicitó al paciente su autorización para que su muestra sanguínea fuera guardada y almacenada en el laboratorio de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endócrinas mientras se realiza este proyecto y una vez que se finalice se realizará de acuerdo a protocolo de bioseguridad la eliminación de los residuos biológicos correspondientes de las muestras.

13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

| CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES | | | | | | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Investigadores de proyecto en actividades: Dra Cecilia Lucio, Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Actividades Realizadas (R) ■ Actividades Planeadas (P) ■ | | | | | | |
| ACTIVIDADES | 2021 | | | 2022 | | 2023 |
| | May-Jul | Ago-Oct | Nov-Dic | Ene-Jun | Jul-Dic | Ene- May |
| Recopilación bibliográfica y escritura del protocolo (R) Dra Cecilia Lucio, Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Evaluación y aceptación de registro del protocolo por el Comité CLIS Dra Cecilia Lucio, Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina (R) | | | | | | |
| Invitación a los participantes de proyecto, firma de CCI (P) Dra Cecilia Lucio, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Revisión de expediente de los participantes en UMF18 (P) Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Recolección de muestras de sangre, separación de plasma y suero (P) Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Análisis de mediciones de laboratorio glucosa, perfil de lípidos. (P) Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Estandarización de técnicas y Análisis de las muestras de participantes de marcadores de inflamación y daño endotelial IL-6, TNF α , ICAM-1, PCSK9 (P) Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Informe de avances de protocolo (P) Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Análisis estadístico de resultados (P) Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Escritura de tesis de maestría (P) Dra Ivette Medina | | | | | | |
| Publicación de resultados artículo científico (P) Dra Cecilia Lucio, Dra Leticia Manuel, Dra Ivette Medina | | | | | | |

Mes de inicio: posterior a la autorización por el SIRELCIS.

14. RESULTADOS

14.1 Descripción de la población de estudio

En el presente estudio se incluyó población derechohabiente IMSS, tanto pacientes con diabetes (DM) y sujetos no diabéticos (noDM), en total 182 pacientes de los cuales, 66 tenían diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y 116 no tenían DM2.

Las características generales de la población de estudio de pacientes con diabetes grupo (DM) se presentan las variables en frecuencia (n, %) en **Tabla 1**. La muestra total fue de 66 pacientes del grupo DM, y estuvo establecida por sexo de participantes por 21 (32%) varones y 45 (68%) mujeres. La edad que sobre todo presentaron los pacientes con diabetes, fue de >50 años con un 74 %.

Otro de los parámetros a considerar en la población es su distribución según el grado de índice de masa corporal fue la siguiente: pacientes con sobrepeso 31 (47%), sujetos que presentaban algún grado de obesidad 27 (41%) y normopeso 8 (12%). Otra de las mediciones antropométricas que se registró fue la circunferencia de cintura se encontró que el 92% (61) de los pacientes fue mayor al valor normal. Estos parámetros son factores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

Así mismo, la frecuencia por rango de edad fueron los siguientes de < 40 años fue n=5 (7.5%), en el rango de 41-64 años fue el que presentó el mayor número de frecuencia con 55 pacientes (83.5%); para edad de >65 años fueron 6 sujetos (9%). Con respecto a tiempo de evolución de la diabetes, el 50% de los pacientes fueron diagnosticados recientemente (duración < 5 años), además, el 59 % tenía un adecuado control de su diabetes, demostrada por $HbA_{1c} \leq 7\%$. En el presente estudio fue importante como criterio de inclusión que el paciente presentara una evolución de DM menor de 10 años para no presentar las complicaciones, asimismo, conocer cómo están los marcadores de daño endotelial y asociados con metabolismo de

lípidos, ya que es un periodo valioso para disminuir complicaciones de diabetes en edad productiva de la población.

| Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes con DM | |
|--|-------------------|
| Variable | Frecuencia |
| Grupos de edad, n (%) | |
| <50 años | 17 (26) |
| ≥ 50 años | 49 (74) |
| Género | |
| Hombres | 21 (32) |
| Mujeres | 45 (68) |
| IMC, n (%) | |
| ≤30,0 kg/m ² | 39 (59) |
| >30,0 kg/m ² | 27 (41) |
| IMC, n (%) | |
| ≤25,0 kg/m ² | 8 (12) |
| >25,0 kg/m ² | 58 (88) |
| Circunferencia de cintura normal, n (%) | 5 (8) |
| HbA1c, n (%) | |
| ≤7,0% | 39 (59) |
| > 7,0% | 27 (41) |
| Duración de la diabetes, n (%) | |
| Diagnóstico reciente (≤ 5 años) | 33 (50) |
| Diagnóstico previo (> 5 años) | 33 (50) |

14.2 Características socio-demográficas

Las variables socioeconómicas se describen en el grupo DM, donde se encontró mayor tendencia con respecto a nivel de estudios fue en nivel básico con un 52.3%. En el desempeño laboral hubo un 43.1% como empleado y el estado civil que predominó fue de 61.5% casado; como se muestra en la **Tabla 2**.

| Tabla 2. Características sociodemográficas de los pacientes con DM | |
|---|-----------------------|
| Variable | Porcentaje (%) |
| Educación (%) | 52.3 |
| Básica | 31.5 |
| Media Superior | 15.4 |
| Superior | 0.8 |
| Otros | |
| Ocupación | 3.8 |
| Comerciante | 36.2 |
| Trabajo Domestico | 43.1 |
| Empleado | 10.8 |
| Jubilado | 5.4 |
| Desempleado | 0.8 |
| Sin especificar | |
| Estado civil | 12.3 |
| Soltero | 9.2 |
| Unión libre | 61.5 |
| Casado | 5.4 |
| Divorciado | 10.8 |
| Viudo | 0.8 |
| Sin especificar | |

14.3 Tratamientos en la población de estudio y la presencia de Comorbilidades secundarias a la Diabetes Mellitus

Es importante describir los tratamientos terapéuticos del grupo DM el 98 % de la población tiene su seguimiento farmacológico **Tabla 3**; los medicamento para diabetes que se administraban fueron hipoglucemiantes del tipo; biguanidas como metformina, glibenclamida, en alguna administración de insulina, o inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4.

Además, se consideró el registro de las comorbilidades que afectan en diabetes como son enfermedades metabólicas, se observó que la hipertensión arterial sistémica es la de mayor presencia en el grupo DM fue del 43 % con administración de fármacos antihipertensivos y el 27 % tomaba otros medicamentos tipo antitiroideos, neuropáticos o antitrombóticos.

Además, otra de las características de la población con diabetes es la alteración del metabolismo de lípidos, que en el grupo DM se observó con es el tratamiento farmacológico para dislipidemias; con un 18% de la población con tratamiento. Un 5% de la población no lleva tratamiento farmacológico.

De los trastornos en colesterol fue de 24 % con hipercolesterolemia, asimismo, un 54% con hipertriglicéridemia como se demostró en la **Tabla 3**.

| Tabla 3. Tratamientos y comorbilidades de los pacientes con DM | |
|---|-------------------|
| Variable | Frecuencia |
| Comorbilidades | 29 (43) |
| Hipertensión | 18 (27) |
| Dislipidemia | 18 (27) |
| Otros | |
| Medicamentos, n (%) | 5 (8) |
| Sin medicación | 13/58 (19/87) |
| Insulina/hipoglucemiante | 18 (27) |
| Hipolipemiantes | 29 (43) |
| Antihipertensivos | 18 (27) |
| Otros (Tiroideos, Neuropáticos, Antitrombóticos) | |
| Lípidos en valores normales | |
| Colesterol <200 mg/dL | 16 (24) |
| Triglicéridos <150 mg/dL | 36 (54) |
| HDL >40 mg/dL | 28 (42) |
| VLDL < 30 mg/dL | 35 (53) |
| LDL <100 mg/dL | 27 (41) |

14.4 Características bioquímicas de pacientes DM2 vs no DM2

Con respecto a las mediciones de los parámetros bioquímicos fueron significativamente altos en el grupo DM comparado al grupo noDM, cabe mencionar que, de acuerdo a las pruebas de normalidad, con la prueba de Kolmogorov-Smirnov; con los resultados del análisis de normalidad de las variables; según el caso, se describen las características de los parámetros bioquímicos de la población dependiendo de su distribución en medias y desviación estándar (DE) o bien, mediana y rango intercuartílico (RIQ), como se demuestra en la **Tabla 4**.

Los resultados de glucosa plasmática fueron de 134 mg/dL del grupo DM vs 83 mg/dL del grupo noDM ($P < 0.0001$), asimismo, la Hb1Ac que es el parámetro de control de diabetes demostró un aumento del grupo DM vs el grupo noDM ($P < 0.0001$).

Para las medidas antropométricas en el caso de IMC no presento diferencias en los dos grupos de estudio ($P = 0.086$). Sin embargo, en los resultados de perímetro abdominal fue mayor en el grupo DM vs noDM, considerando que el incremento de la grasa abdominal es factor de riesgo de cardiovascular.

De la misma manera, las concentraciones del perfil de lípidos en el 54 % de los pacientes tenían perfiles lipídicos con valores fuera de rango de normalidad, de estos pacientes el 27 % estaban en tratamiento con una dosis estándar de terapia hipolipemiantes para reducir los lípidos como se observa en la **Tabla 1**.

En el caso de triglicéridos tuvo una tendencia a incrementar en el grupo DM vs noDM sin diferencia estadística ($P = 0.08$), sin embargo, otros parámetros fueron más altos en pacientes no diabéticos (noDM), en el caso de HDL ($P < 0.0001$) lo esperado es una disminución de los niveles plasmáticos en diabetes como se mostró en el grupo DM comparado al grupo noDM. Sin embargo, para LDL fue mayor el nivel en el grupo noDM que en el grupo DM ($P < 0.0001$).

Tabla 4. Variables clínicas y bioquímicas de pacientes con DM y no DM.

| Variable | DM | NO DM | p |
|---|-----------------|-----------------|---------|
| Evolución de DM2, (RIQ); años | 2 (2 - 10) | 0 | <0.0001 |
| Edad, (RIQ); años | 55 (50 - 61) | 49 (42 - 54) | <0.0001 |
| Sexo, M/F | 21 / 45 | 34/82 | |
| IMC, (RIQ) | 29 (27 - 34) | 28 (25 - 32) | 0.0864 |
| Perímetro abdominal, (DE); cm | 98 ± 14 | 92.19 ± 12.64 | 0.0125 |
| ICC, (DE) | 0.9 ± 0.07 | 0.85 ±0.06 | |
| Glucosa (RIQ); mg/dL | 134 (107 - 174) | 83 (77- 89) | <0.0001 |
| Colesterol (RIQ); mg/dL | 171 (148 - 201) | 214 (183-241) | 0.0102 |
| Triglicéridos, (RIQ); mg/dL | 170 (117- 224) | 146 (114– 207) | 0.0873 |
| HDL, (DE) mg/dL | 37.47 ±10.5 | 52 ± 16 | <0.0001 |
| LDL, (DE) mg/dL | 108 ± 30 | 131 ± 42 | 0.0001 |
| Hb1Ac, (RIQ); % | 6 (5 - 8) | 5.4 (5.4 - 5.8) | <0.0001 |
| Los datos se expresan como media y desviación estándar (DE); mediana y RIQ (rango intercuartílico). IMC: índice de masa corporal; ICC. Índice cintura-cadera. | | | |

14.5 Marcadores de inflamación y daño endotelial con PCSK9 en pacientes DM vs no DM

Por otra parte, se hace énfasis en continuar con estudios sobre todo en los marcadores de inflamación que de una u otra manera ayudan en la valoración de las complicaciones a largo plazo de diabetes y que son las que impactan en la calidad de vida del paciente. Así, una de las citocinas proinflamatorias que participan en desencadenar diversos mecanismos patofisiológicos en endotelio y en enfermedades cardiovasculares es el TNF- α , en el caso del grupo DM se obtuvo un nivel de 10 pg/mL comparado con el grupo noDM fue de 3 pg/mL con una diferencia estadística $P=0.0026$, **Tabla 5**. Por lo cual, el grupo DM se encuentra con varios factores de riesgo como es el IMC; perímetro abdominal, así como el aumento de lípidos como se encontró en este grupo DM. Además, se midió el indicador de daño endotelial como es ICAM-1, se encontró un aumento significativo en el grupo DM comparado con el grupo noDM. $p<0.0001$.

Sin embargo, la molécula de interés en este trabajo es PCSK9 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de ambos grupos de pacientes diabéticos y los no diabéticos. Asimismo, en el caso de leptina no se encontraron diferencias, cabe mencionar que ambos grupos tienen un IMC alto, como se muestra en la **Tabla 5**. En el caso de leptina no presento diferencias de entre los dos grupos de estudio.

| Tabla 5. TNF- α , ICAM-1, PCSK9 y leptina en pacientes con DM VS no DM. | | | |
|---|-----------------|--------------|---------|
| Variable | DM | NO DM | p |
| TNF- α , (RIQ); pg/mL | 10 (6-17) | 3 (2-6) | 0.0026 |
| ICAM-1, (RIQ); ng/mL | 149 (109 – 194) | 91 (58 -114) | <0.0001 |
| PCSK9, (DE) ng/mL | 100 \pm 25 | 99 \pm 51 | 0.8423 |
| Leptina, (RIQ); ng/mL | 21 (18 – 23) | 21 (3- 24) | |
| Los datos se expresan como media y desviación estándar (DE); mediana y RIQ (rango intercuartílico). | | | |

14.6 Análisis de PCSK9 asociada a DM, HbA1, género, edad e IMC.

En la **Figura 7**, se demuestran las gráficas de la comparación de los niveles plasmáticos de PCSK9 según: (A), población de estudio (diabéticos versus no diabéticos); (B), HbA1c % en diabéticos (HbA1c < 7% versus HbA1c > 7%); (C), duración de la diabetes (<5 años versus > 5 años); (D), Género de los diabéticos (mujeres versus hombres); (E), edad de los diabéticos (≤ 50 años versus > 50 años). (F) IMC de los pacientes diabéticos (≤ 25 versus >25).

En la **Tabla 5**, se muestra que no hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles plasmáticos de PCSK9 en pacientes con DM y con los no DM ($p=0.84$), ni tampoco se observó por género ni por edad en los pacientes diabéticos <50 vs >50 años ($p=0.92$ y $p=0.53$), Además, que en el grupo de DM estratificados por su control glucémico (mal control HbA1c > 7% y adecuado control glucémico HbA1c < 7%) hay diferencias estadísticamente significativa ($p=0.024$); así como en el resultado de IMC menor de 25 comparado con mayor de 25, se encontraron diferencias significativas en PCSK9 ($p=0.0469$) y en cuanto a la duración de la enfermedad si hubo diferencia estadísticamente significativa en la enfermedad de más de 5 años ($P=0.081$). Figura 7.

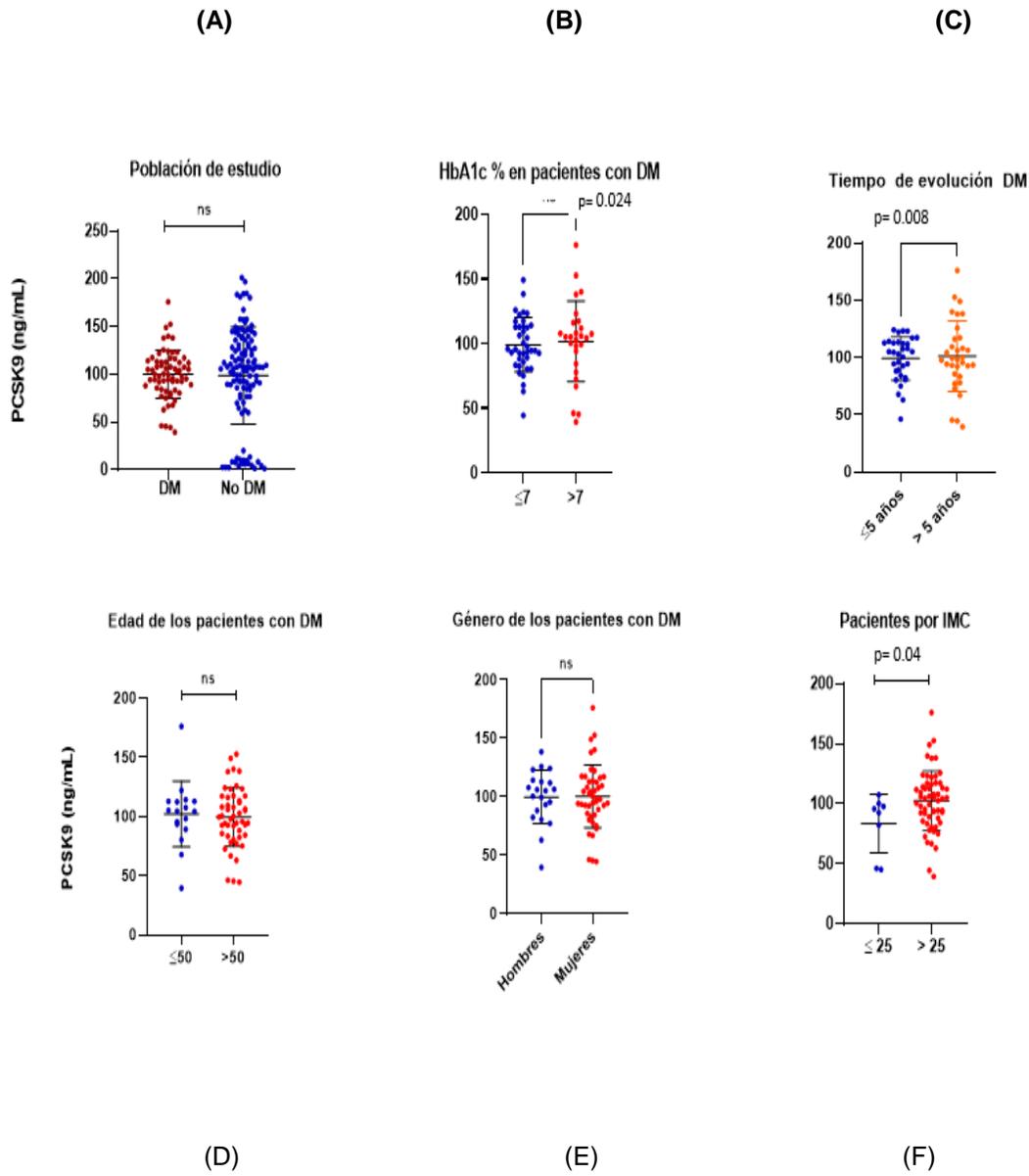


Figura 7. Mediciones de los niveles plasmáticos de PCSK9 en los pacientes con diabetes.

Con respecto al grupo de no DM, se observa es mayor la concentración de PCSK9 en mujeres comparada con los hombres, con diferencia estadística en este grupo ($p < 0.0001$) en **Figura 8**. En el grupo de pacientes no diabéticos, no hubo diferencias por grupo de edad (≤ 50 años versus >50) ni por IMC (≤ 25 versus >25).

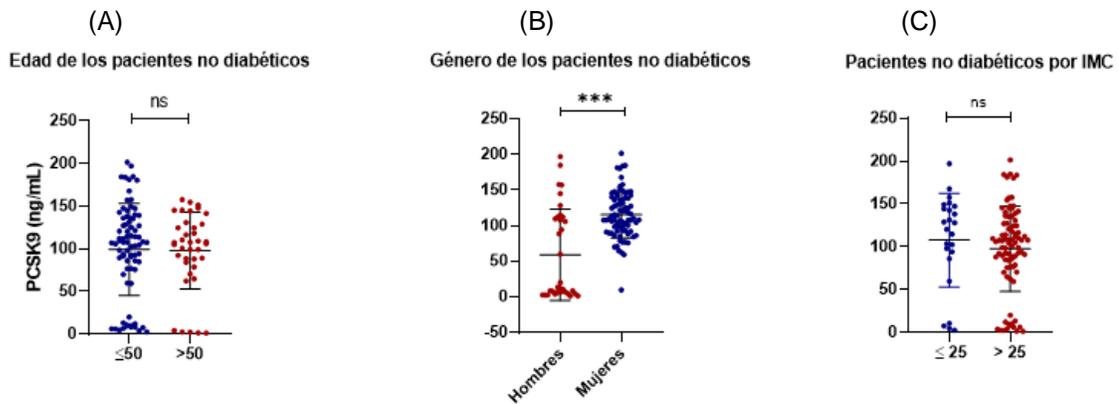


Figura 8. Mediciones de los niveles plasmáticos de PCSK9 en los pacientes no diabéticos. Comparación de los niveles plasmáticos de PCSK9 según: (A) edad (≤ 50 años versus > 50 años), (B), Género de los diabéticos (mujeres versus hombres); (C) IMC (≤ 25 versus >25)

14.7 Análisis de correlación de pcsk9 con las variables de estudio en los pacientes DM y no DM.

El análisis de PCSK9 con las diferentes variables metabólicas, se representa en **Tabla 6**, así mismo, se hizo el análisis de correlación de Spearman, para su asociación del grupo DM se observó la correlación en los niveles séricos de PCSK9 con los años de evolución de la enfermedad ($p=0.01$), y con la medición antropométrica de IMC presento significancia estadística de $p=0.01$; en los parámetros bioquímicos de interés con asociación significativa fueron LDL con $p=0.04$, VLDL $p=0.03$, los marcadores de inflamación como es TNF- α el valor de

p=0.01, en el caso de triglicéridos la p=0.06, con tendencia a incrementarse con PCSK9. Figura 9

Para el grupo NoDM se observó asociación positiva con Glucosa p= 0.03, colesterol p=0.03, HDL p=0.008, LDL p=0.04, en el caso de inflamación con TNF- α la significancia fue de p=0.01, es de interés que en el caso de indicador de daño endotelial como es ICAM-1 si hubo asociación p<0.0001, y con leptina p=0.0002 Tabla 6, Figura 9.

| Tabla 6. Correlación de los niveles séricos de PCSK9 con las características clínicas y bioquímicas en los pacientes DM y no DM. | | |
|---|-----------|--------------|
| | DM | No DM |
| | r | r |
| Tiempo de evolución | 0.027 ** | |
| Edad, años | -0.170 | 0.068 |
| Glucosa mg/dL | 0.0864 | 0.214* |
| Colesterol mg/dL | 0.0643 | 0.196* |
| Triglicéridos, mg/dL | 0.226 | 0.034 |
| HDL, mg/dL | -0.174 | 0.242** |
| VLDL, mg/dL | 0.266 | 0.034 |
| LDL, mg/dL | -0.1 | 0.186* |
| Hb1Ac; % | 0.0555 | 0.361 |
| ICAM-1, ng/mL | 0.029 | 0.452*** |
| TNF-α, pg/mL | 0.300 | -0.219* |
| Leptina ng/mL | 0.001 | 0.339*** |

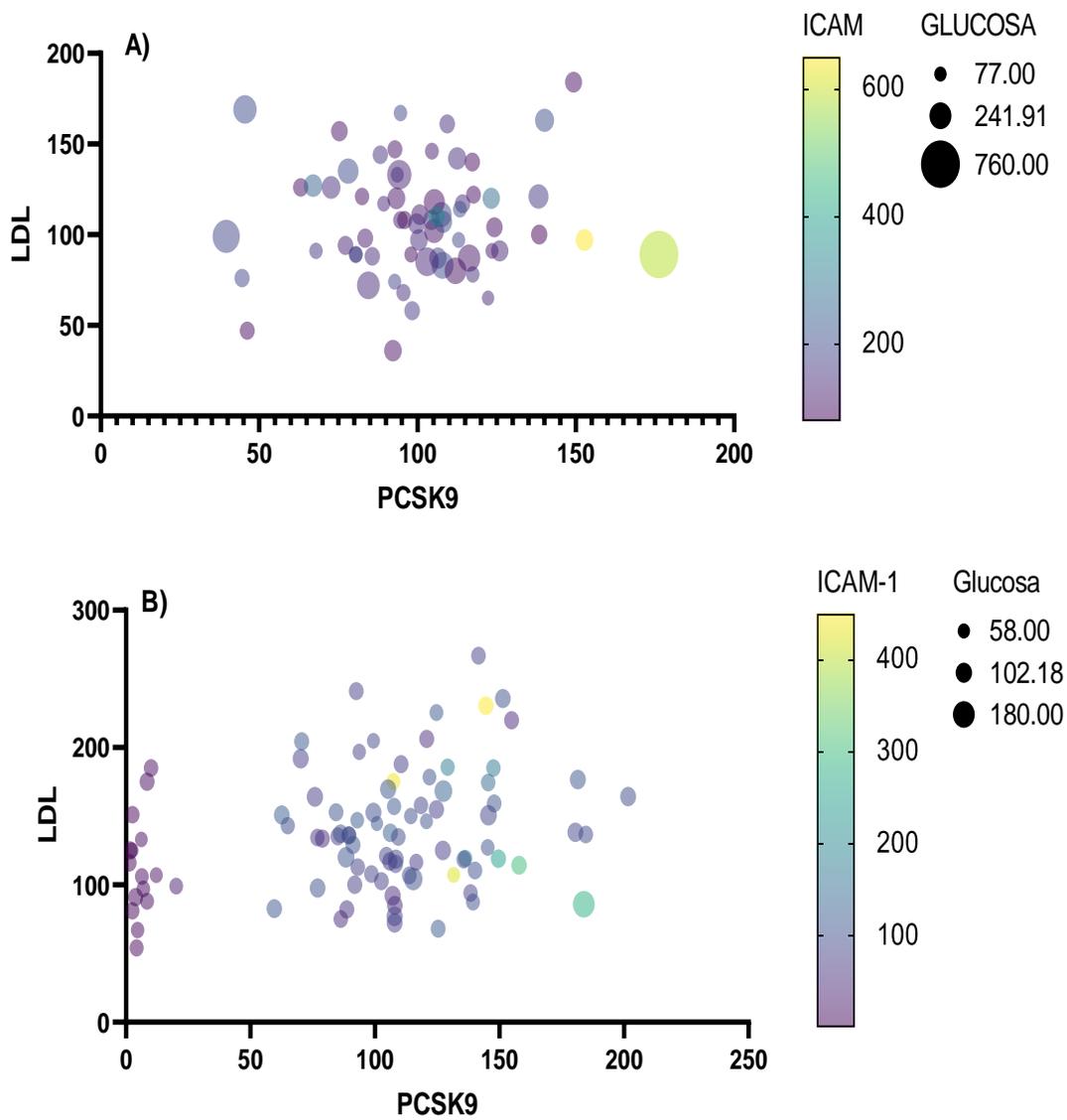


Figura 9. Asociación de variables LDL, ICAM-1 y Glucosa con PCSK9 en pacientes A) Diabéticos B) No diabéticos.

14.8 Comparación de parámetros bioquímicos, PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial entre grupos

Se compararon los parámetros bioquímicos, PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial entre grupos encontrando que los pacientes con DM2 con normopeso y sobrepeso tuvieron significativamente mayores niveles de glucosa y HbA1c que los pacientes controles normopesos y sobrepesos (Tabla 7).

En cuanto al perfil lipídico, los mayores niveles de triglicéridos se encontraron en pacientes diabéticos con sobrepeso (304.5 ± 702.7 mg/dL), aunque los niveles de colesterol total y LDL fueron mayores en los no DM que en los DM ($p=0.046$ y $p<0.001$). Los pacientes con diabetes mellitus con normopeso y sobrepeso tuvieron los menores niveles de HDL (41.9 ± 11.4 y 36.6 ± 10.2) que los pacientes sin diabetes mellitus (52.2 ± 15.5 y 52.5 ± 16.2 mg/dL) ($p<0.001$, Tabla 7).

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de PCSK9 entre pacientes con y sin diabetes mellitus. Pero, los pacientes con DM2 con obesidad tuvieron significativamente mayores niveles de ICAM-1 (171.3 ± 100.2 ng/mL) que los pacientes con DM2 con normopeso (141.6 ± 61.0 ng/mL) y que aquellos sin diabetes normopesos (134.3 ± 118.4 ng/mL) y con sobrepeso (87.8 ± 50.7 ng/mL) ($p<0.001$, Tabla 7).

También, los niveles de TNF- α (pg/mL) fueron significativamente mayores en los pacientes con DM2 con y sin sobrepeso (20.7 ± 34.3 y 11.9 ± 11.4) que no diabéticos normopesos (4.2 ± 4.4) ($p=0.017$, Tabla 7).

Por otro lado, los niveles séricos de leptina fueron significativamente mayores en pacientes con DM2 con sobrepeso (22.0 ± 7.3 ng/mL) que sin sobrepeso (13.4 ± 7.7 ng/mL), y que en controles no diabéticos (normopesos 14.6 ± 10.4 y con sobrepeso 17.6 ± 9.9) ($p=0.001$; Tabla 7).

| Tabla 7. Comparación de parámetros bioquímicos, PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial entre grupos | | | | | |
|--|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------|
| Característica | DM2 IMC ≤ 25 (n=11) | DM2 IMC>25 (n=55) | No DM IMC ≤ 25 (n=30) | No DM IMC>25 (n=80) | Valor de p* |
| Glucosa (mg/dL) | 144.7±56.2 | 160.8±103.0 | 81.9±14.2 | 84.9±16.2 | <0.001 |
| Colesterol (mg/dL) | 173.3±37.1 | 191.0±106.9 | 214.1±54.9 | 220.6±48.3 | 0.046 |
| Tg (mg/dL) | 128.8±56.8 | 304.5±702.7 | 181.7±147.0 | 167.3±76.1 | 0.213 |
| HDL (mg/dL) | 41.9±11.4 | 36.6±10.2 | 52.2±15.5 | 52.5±16.2 | <0.001 |
| LDL (mg/dL) | 108.8±33.9 | 107.7±29.4 | 125.8±48.3 | 135.1±39.1 | <0.001 |
| HbA1c (%) | 6.8±1.9 | 6.9±1.9 | 5.4±0.4 | 5.6±0.4 | <0.001 |
| PCSK9 (ng/mL) | 89.1±23.7 | 102.4±25.3 | 107.2±49.4 | 97.4±51.4 | 0.575 |
| ICAM (ng/dL) | 141.6±61.0 | 171.3±100.2 | 134.3±118.4 | 87.8±50.7 | <0.001 |
| TNF-α (pg/mL) | 11.9±11.4 | 20.7±34.3 | 4.2±4.4 | 9.3±23.3 | 0.017 |
| Leptina (ng/mL) | 13.4±7.7 | 22.0±7.3 | 14.6±10.4 | 17.6±9.9 | 0.001 |

*Prueba ANOVA

14.9 Influencia de la edad y el sexo sobre los marcadores de disfunción endotelial y PCSK9

Finalmente, para evaluar la influencia de la edad y el sexo sobre los marcadores de disfunción endotelial y PCSK9 se realizó un análisis multivariante tipo GLM (Modelo lineal generalizado), encontrando que la edad no tiene un impacto significativo en PCSK9, ICAM-1, TNF- α ; pero si en los niveles de leptina. En cuanto al sexo, las mujeres tienen significativamente valores más elevados de PCSK9, ICAM-1, y leptina, pero no de TNF- α (Tabla 8).

Tabla 8 . Resumen del modelo multivariante sobre la influencia de la edad sobre PCSK9 y marcadores de disfunción endotelial

| Factor/Covariable | Dependiente | F | Sig. |
|--------------------------|--------------------|----------|------------------|
| Edad | PCSK9 | 0.306 | 0.581 |
| | ICAM-1 | 2.908 | 0.090 |
| | TNF- α | 3.558 | 0.061 |
| | Leptina | 22.629 | <0.001 |
| Sexo | PCSK9 | 29.706 | <0.001 |
| | ICAM-1 | 9.506 | 0.002 |
| | TNF- α | 0.328 | 0.568 |
| | Leptina | 109.522 | <0.001 |

15. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo integran la relación de marcadores de inflamación y de disfunción endotelial (TNF- α , ICAM-1 y leptina) con PCSK9, proteína involucrada en metabolismo de LDL en pacientes con DM2 y obesidad. Asimismo, se confirma que PCSK9 tiene interacción con disfunción endotelial. Se sabe que la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la obesidad son importantes desafíos para la salud mundial por las importantes implicaciones que conllevan para la salud cardiovascular (44). Actualmente para realizar una intervención de salud, desde el punto de vista cardiovascular, se deben valorar los factores de riesgo cardiovascular modificables como son el tabaquismo, la dislipemia, la hipertensión arterial y el sobrepeso/obesidad; si bien la prevención ha de ser multifactorial, máxime en el binomio obesidad/diabetes que son vínculos presentes en alto porcentaje de los pacientes con enfermedades metabólicas.

Estudios epidemiológicos señalan a la enfermedad cardiovascular como la principal causa de morbilidad sobre todo en la población adulta mayor; desde el estudio de Framingham que permitió conocer como los distintos factores de riesgo cardiovascular contribuyen al desarrollo de la misma; y numerosos estudios han demostrado que un incremento de grasa corporal conlleva un aumento concomitante de factores de riesgo cardiovascular. En nuestra población el 88% de los pacientes que viven con diabetes presentaron un IMC > 25, es decir: sobrepeso y obesidad; la presencia de alteraciones metabólicas aumentaba en relación al IMC, mostrando aumento del porcentaje de grasa poniendo de manifiesto la asociación de la obesidad con los factores de riesgo cardiovascular y otras comorbilidades de elevada morbi-mortalidad señalada en estudios anteriores.

Es de resaltar que, con respecto al sexo y edad, en ambos grupos con diabetes (68%) y sin diabetes (71%) la mayor participación fue de mujeres, la edad promedio fue significativamente mayor en los pacientes con diabetes que sin diabetes mellitus, lo que es esperado dado la frecuencia que se reporta es mayor edad en

diabetes y es más difícil conseguir controles sin diabetes para parear los grupos por edad, ya que la prevalencia de diabetes pasa de 1.5% en individuos de 20-39 años a 18.8% en los mayores de 60 años en México (46). Estos resultados son en afinidad con lo reportado por ENSANUT 2022 donde se informó que el porcentaje de la población de 20 años y más con diagnóstico médico previo de diabetes, es del 12.6 %, lo que equivale a más de 9 millones de personas en México; en mujeres se encontró en el 13.6 % y el 11.3% de los hombres se conocían con diabetes mellitus.

En México la entidad con mayor porcentaje de diabetes fue Campeche con el 14% de su población, sin embargo, CDMX se encuentra entre las 5 entidades con mayor prevalencia de diabetes. La población de este trabajo fueron residentes de CDMX, se formaron subgrupos de pacientes con y sin DM2 tanto con sobrepeso como sin sobrepeso para determinar si el peso y el estado glucémico tienen alguna influencia en los resultados.

Asimismo, al comparar los parámetros bioquímicos metabólicos entre los grupos encontramos que los pacientes con DM2 mantenían mayores niveles de glucemia, y HbA1c que los controles, así como menores niveles de HDL, y una tendencia a mayores niveles de triglicéridos. Si bien los mayores niveles de marcadores de control glucémico son propios de la patología, los bajos niveles de HDL se han reportado con frecuencia en pacientes con diabetes. De hecho, la diabetes se ha asociado con cambios cuantitativos en la cantidad de lípidos circulantes, en particular, un aumento de los triglicéridos y una reducción de HDL. De igual modo, al igual que otras lipoproteínas, la HDL también sufre importantes cambios cualitativos en la diabetes, tanto en su estructura como en su función (47). Así con el aumento de los triglicéridos, se sabe que las personas con diabetes también tienen más probabilidades de padecer otras enfermedades que aumentan el riesgo de trastornos cardíacos y derrames cerebrales, como niveles altos de colesterol LDL (malo), niveles bajos de colesterol HDL (bueno) y niveles altos de triglicéridos esta tríada, conocida como dislipidemia diabética, es una combinación mortal que

atribuye a los pacientes con diabetes en riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (48).

Aunque la fisiopatología de la dislipidemia diabética no se comprende por completo, se ha encontrado que la resistencia a la insulina y la deficiencia relativa de insulina observadas en pacientes con DM2 contribuyen a los cambios en los lípidos séricos porque la insulina desempeña un papel importante en la regulación del metabolismo de los lípidos. Además, algunas adipocitocinas, como la adiponectina o la proteína 4 de unión al retinol (RPB4), también pueden contribuir al desarrollo de dislipidemia en pacientes con DM2 (48).

Contrario a lo esperado en el paciente con DM2 no tratado, quien tiende a presentar elevación de los niveles de colesterol total y LDL, los pacientes con diabetes mellitus tuvieron menores niveles de colesterol total y LDL que los controles no diabéticos, lo que podría explicarse por el tratamiento hipolipemiante que los pacientes con DM2 tenían prescrito incluyendo pravastatina y atorvastatina. Mientras que, los mayores niveles de colesterol total y LDL en la población no diabética está plenamente de acuerdo con el hecho de que la población mexicana es altamente susceptible a las dislipidemias. De hecho, en un estudio nacional realizado por Aguilar-Salinas y cols. se encontró que la dislipidemia más prevalente en México es el HDL bajo con una frecuencia de 60.5%, seguido de la hipercolesterolemia que se observó en el 43.6% de la muestra y de la hipertrigliceridemia encontrada en el 31.5% de los participantes en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (49). Así, los niveles elevados de LDL y colesterol total en los individuos no diabéticos aparentemente sanos tiene coherencia con lo esperado en nuestra población.

De esta manera, con el aumento de triglicéridos se refleja la relación VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) que se produce en el hepatocito y se libera al su torrente sanguíneo. Las partículas de VLDL llevan triglicéridos, a diferentes tejidos. VLDL es similar al colesterol LDL, pero el LDL transporta colesterol a los

tejidos en lugar de triglicéridos. Así también, VLDL y el LDL son reconocidos a veces como colesterol "malos" porque pueden contribuir a la acumulación de placa en las arterias contribuyendo al daño endotelial. En el exceso de LDL no captada por su receptor específico, junto a otras partículas lipídicas, especialmente VLDLR (receptor de lipoproteína de muy baja densidad) e IDL (Lipoproteína de densidad intermedia), pueden atravesar la pared endotelial y ser retenidas por los proteoglicanos del espacio subendotelial y ser captada por los macrófagos (receptor scavenger o basurero), iniciando así el proceso ateroscleroso. En este trabajo los triglicéridos fueron de importancia en relación con VLDL que en ambos grupos de estudio se mostró un aumento de VLDL mayor del 100%.

Otra de las características de la población de estudios que se debe destacar son los tratamientos a las diferentes comorbilidades, ya sea como monofarmacos o combinados ya que el 92% de los pacientes tenía algún tratamiento a las alteraciones metabólicas como dislipidemias, antitrombóticos, antihipertensivos, además, de los hipoglucemiantes para el control de diabetes. Posiblemente una de estas causas de que la lipoproteína LDL, se identificó con un menor nivel comparada al incremento en el grupo no diabético, pero con IMC alto. Por otra parte, estudios previos mostraron que los niveles circulantes de PCSK9 podrían verse afectados por múltiples factores, incluidos el ejercicio, el tabaquismo, el consumo de alcohol o de algunos téis y los medicamentos para reducir los lípidos. (44) Que en pacientes con diabetes estuvieron con tratamiento hipolipemiente el 27% y con administración de insulina un 58%, se debe resaltar que se ha sugerido que PCSK9 tiene conexión con mecanismo de insulina mediante los estudios se han establecido asociado con resistencia a insulina y aumento de PCSK9 (45).

Por otro lado, la capa endotelial, que generalmente es resistente a la unión de leucocitos, expresa moléculas de adhesión (ICAM-1) que permiten el anclaje de los glóbulos blancos en la superficie celular cuando están en presencia de estímulos que las activan, como pueden ser la dislipemia, la hipertensión o las moléculas proinflamatorias. De esta manera los niveles de TNF- α son congruentes con el

grupo de diabetes en este trabajo que además tiene IMC alto, reforzando la conexión de alteración metabólica con el proceso inflamatorio, pero con el vínculo de la disfunción endotelial, caracterizada por el deterioro de la función de las células endoteliales, con expresión de marcadores de daño endotelial como ICAM-1, como un factor crítico que contribuye al desarrollo de complicaciones cardiovasculares en personas con obesidad y DM2 (44). Múltiples marcadores de disfunción endotelial, incluidos ICAM-1, y la leptina, se han estudiado en relación con la presencia de factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, su relación específica con la PCSK9, una proteína implicada en el metabolismo de los lípidos, sigue siendo un área de investigación intrigante (45).

Por lo tanto, ICAM-1 y leptina se conoce sus mecanismos involucrados con disfunción endotelial. De la población con diabetes se describe que los pacientes con DM2 con IMC >25 tuvieron significativamente mayores niveles de estos biomarcadores que los diabéticos normopesos y que los controles sin diabetes. De esta manera, esta elevación de los marcadores de disfunción endotelial parece estar principalmente asociados al sobrepeso y la obesidad, más que al estado diabético *per se*. De hecho, se ha reportado que la disfunción endotelial representa la alteración vascular más temprana observada en la obesidad, una condición en la que las células endoteliales cambian a un fenotipo proaterosclerótico (50). En la obesidad, la disfunción endotelial también es promovida por señales autocrinas, paracrinas y endocrinas, incluida la inflamación vascular de bajo grado, que está fuertemente involucrada en favorecer la disfunción endotelial y la aterosclerosis; esta inflamación es promovida por diversos factores como la proteína C reactiva (PCR), pero sobre todo por el TNF- α , una citocina proinflamatoria importante involucrada en la reducción de la disponibilidad de NO al inducir la generación de especies reactivas de oxígeno (EROS) (51). Estudios como el de Alzamil y cols. han encontrado que el TNF- α está elevado y asociado con el binomio obesidad y DM2 como en nuestro estudio, y que se correlaciona con la HbA1c, indicando que, la coexistencia de diabetes y obesidad es un estado de inflamación de bajo grado (52). Otros reportes indican en que individuos con diabetes de reciente diagnóstico,

el TNF- α está elevado, sugiriendo que esta citocina, además de su función proinflamatoria, también es un marcador de disfunción endotelial, y está también relacionada con el desarrollo de la diabetes mellitus (53).

Algunos estudios *in vitro* estimulando en medios de cultivo células endoteliales con leptina a diferentes concentraciones demostraron que leptina está relacionado con la activación endotelial mediante el aumento de ICAM-1 y de COX-2 quedando involucrada la leptina en mecanismos de inflamación vía prostaglandinas y el daño endotelial mediante moléculas de adhesión (54, 55).

Además, otros estudios han sugerido que la leptina promueve la disfunción endotelial a través de mecanismos dependientes de EROS, aunque otros han demostrado que la leptina estimula la producción de NO y protege el endotelio vascular del estrés oxidativo (57). De hecho, estudios como el de Koborová y cols. han reportado que la leptina se encuentra elevada en pacientes con obesidad en individuos aparentemente sanos y clasificados metabólicamente sanos con criterios clásicos (58). En individuos con diabetes, se han encontrado niveles altos de leptina en plasma en comparación con los no diabéticos tras ajustar por edad, sexo, raza/etnicidad, educación, tabaquismo, consumo de alcohol, hipertensión, colesterol sérico y proteína C, aunque, los niveles más altos de leptina en plasma son más bien dependientes del IMC en estos pacientes (59).

Se debe destacar en este estudio que entre la molécula de adhesión ICAM-1 y PCSK9 en pacientes con diabetes, se encontró asociación lo que podemos interpretar que si hay interacción entre mecanismos de lípidos como es PCSK9 en diabetes pero además está favoreciendo a la presencia de disfunción endotelial, ya que la expresión de ICAM-1 en estudios previos se ha demostrado que refleja de cierto modo su expresión sobre la superficie endotelial, mostrando una respuesta inflamatoria, además con leptina, derivada de la producción de un exceso de tejido adiposo en sujetos con un porcentaje de grasa aumentado como fue en el presente estudio.

Por su parte, el ICAM-1, un indicador temprano de aterosclerosis y disfunción endotelial juega un papel crítico en la patogénesis de muchas enfermedades en donde la disfunción del endotelio vascular es un proceso clave, como la de aterosclerosis (60). Algunos estudios previos han encontrado que el ICAM-1 está elevado en el paciente con diabetes y con obesidad. Por ejemplo, Mulhem y cols. han reportado que, moléculas de adhesión intercelular como ICAM-1 soluble, E-selectina y P-selectina se elevan en pacientes obesos metabólicamente sanos en comparación con los normopesos (61). No obstante, otros estudios como el de Matsumoto y cols. no han encontrado diferencias significativas en los niveles de ICAM-1 en pacientes diabéticos con y sin obesidad (62).

Por otra parte, en este estudio en el análisis de la concentración de PCSK9 no se encontró diferencias entre pacientes con DM2 y sin hiperglucemia o sin diabetes, ni entre aquellos con sobrepeso y obesidad, independientemente de su estado glucémico. Esto no es raro, considerando que el PSCK9 participa más bien en el metabolismo de lípidos, pero no el de glucosa, y que las asociaciones con parámetros glucémicos podrían ser indirectos. De hecho, estudios previos han reportado valores similares de PSCK9 en pacientes con tolerancia a la glucosa normal, prediabéticos y con DM2, y que la utilidad predictiva de los niveles circulantes de PCSK9 en DM2 debe confirmarse (63,64).

Al evaluar la correlación entre el PSCK9 sérico y marcadores de disfunción endotelial como ICAM 1, IL-6, TNF- α y leptina, encontramos que solamente se correlacionó significativa y positivamente con ICAM-1 y con leptina, pero no con los niveles de TNF- α . De esta manera, niveles elevados de PCSK9 se asocian con mayores niveles de ICAM-1 y con leptina, y viceversa. Estudios preclínicos apoyan la correlación positiva de PSCK9 sérico con ICAM-1, pues se ha reportado que PCSK9 induce la expresión de ICAM-1 y, esta correlación se puede considerar al aumento de LDLoxid que no se une a PCSK9 por lo tanto no hay sustrato para que se promueva la degradación de receptor LDL, se debe considerar que actualmente

se están estudiado la relación de anexinas con la función de PCSK9; en consecuencia, activa las células endoteliales y estimula la migración de monocitos/macrófagos (65). Al parecer, PCSK9 no tiene un impacto relevante sobre la producción de TNF- α en pacientes con enfermedades metabólicas como se ha sugerido previamente en otros tejidos (66), ya que no hubo correlación significativa entre PCSK9 y TNF- α séricos. Por otro lado, la correlación de PCSK9 con ICAM-1 coincide con lo reportado por Dounousi y cols. quienes reportaron una correlación positiva de los niveles de PCSK9 con los niveles séricos de ICAM-1 soluble, pero en pacientes con enfermedad renal crónica sin hemodiálisis (67). De la misma manera la correlación positiva entre PCSK9 sérico y leptina, es también plausible ya que se ha reportado una alta correlación positiva entre leptina e ICAM-1 soluble en pacientes con enfermedad arterial coronaria (68).

Así, la elevación de ICAM-1, y leptina en los pacientes diabéticos con obesidad, es un indicador de disfunción endotelial en estos pacientes, y la correlación de PCSK9 con ICAM y leptina, indican que el metabolismo de lípidos en pacientes con diabetes está relacionado con disfunción endotelial.

Posiblemente otro mecanismo involucrado con PCSK9, puede ser el papel de diferentes anexinas, se ha demostrado que la anexina de tipo A2 (AnxA2) se sugiere participa en la respuesta inflamatoria y en el remodelado vascular subyacente que tiene lugar durante el desarrollo y progresión de la lesión de aterosclerosis (56). Esta AnxA2 tiene interacción con la PCSK9, a la que inhibe comportándose como un modulador endógeno, participando así en uno de los principales mecanismos de regulación de los niveles circulantes de las LDL (70), posiblemente sea un mecanismo que este influyendo como mecanismo compensatorio en pacientes con obesidad y diabetes. (71,72). Finalmente, la correlación positiva de los niveles de PCSK9 con colesterol total y c-LDL son biológicamente plausibles dado que al acelerar el PCSK9 la degradación del receptor de LDL (rLDL), ello contribuye a una elevación del colesterol sérico o de partículas ricas en colesterol porque no son internalizados en el hígado por el rLDL(67).

16. CONCLUSIONES

- La causa de la resistencia a la insulina en la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM 2) no se limita a la alteración de la señalización de la insulina, sino que también implica la interacción compleja de múltiples vías metabólicas incluidas vías de lípidos.
- Como se ha identificado en otros estudios a mayor edad y en este caso mujeres son condiciones asociadas a daño endotelial y cambios de PCSK9 en diabetes.
- Se propone incorporar a la metabolómica (glucosa) y la lipidómica (triglicéridos, VLDL, colesterol) en la integración de PCSK9 en la asociación de daño endotelial dado la elevación de marcadores de disfunción endotelial como ICAM-1, TNF- α y leptina en pacientes con el binomio obesidad y DM2.
- Debe considerarse como área de oportunidad estudios a futuro para integrar mecanismos de VLDL y HDL con PCSK9, en pacientes con diabetes a largo plazo de evolución.

17. REFERENCIAS

1. OMS. Carga mundial de Diabetes. En: OMS. Informe Mundial sobre la Diabetes. Edición. Ginebra, Suiza: WHO; 2016. pág. 21-31 (ISBN 9789243565255).
2. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, & King H. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*.2004; 27(5): 1047-1053
3. Mathers CD, Loncar D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*. 3(11):442.
4. American Diabetes Association. (2018). Standards of Medical Care in Diabetes.
5. National Diabetes Statistics Report 2020, CDC 2020 <https://www.cdc.gov/diabetes/pdfs/data/statistics/national-diabetes-statistics-report.pdf>
6. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2022.
7. Zurita-Cruz JN, Manuel-Apolinar L, Arellano-Flores ML, Gutierrez-Gonzalez A, Rivera- Hernández A, Carranza-Muleiro RA, Borja-Aburto VH, Cisneros-González N. Type 2 diabetes: epidemiological changes at Instituto Mexicano del Seguro Social associated with complications in Mexico. *International Journal of Diabetes in Developing Countries* 2019 doi.org/10.1007/s13410-019-00767-6
8. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* Jan 2017, 40 (Supplement 1) S11-S24
9. Velasco-Contreras ME. Evolución de la epidemia de diabetes mellitus tipo 2 en población derechohabiente del IMSS. *Rev Med Inst Mex Seg Soc* 2016;54(4):490-503.
10. Reaven G. M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595– 1607.
11. Sharkey JR, Dean WR, Nalty CC, Xu J. Convenience stores are the key food environment influence on nutrients available from household food supplies in Texas Border Colonias. *BMC Public Health* 2013; 13:45
12. Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9(1):13-27.

13. Shapiro MD, Tavori H, Fazio S. PCSK9: from basic science discoveries to clinical trials. *Circ Res* 2018;122:1420–1438.
14. Ding Z, Pothineni NVK, Goel A, Lüscher TF, Mehta JL. PCSK9 and inflammation: role of shear stress, pro-inflammatory cytokines, and LOX-1. *Cardiovasc Res.* 2020 Apr 1;116(5):908-915. doi: 10.1093/cvr/cvz313.
15. OMS 2003,
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42755/WHO_TRS_916_spa.pdf
16. Latnovic L, Rodríguez Cabrera L. Public health strategy against overweight and obesity in Mexico's National Agreement for Nutritional Health. *Int J Obes Suppl.* 2013; 3: S12-14.
17. Gu P, Xu A. Interplay between adipose tissue and blood vessels in obesity and vascular dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013;14(1):49-58.
18. Martins D, Tareen N, Pan D, Norris K. The relationship between body mass index and pulse pressure in older adults with isolated systolic hypertension. *Am J Hypertens* 2002; 15: 538-543.
19. Tisha Marie B. Suboc, Kodlipet Dharmashankar. Moderate obesity and endothelial dysfunction in humans: influence of gender and systemic inflammation *Physiological Reports* 2013;1. Iss.3.
20. Floege J, Lüscher B, Müller-Newen G. Cytokines and inflammation. *European Journal of Cell Biology* 2012; 91:427.
21. Wallace JL. Nitric oxide as a regulator of inflammatory processes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2005; 100(1): 5-9.
22. Gossiau, A et al. The importance of natural product characterization in studies of their anti-inflammatory activity. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55:74–82.
23. Van den Oever I, Raterman H, Nurmohamed M, Simsek S. Endothelial dysfunction, inflammation and apoptosis in diabetes mellitus. *Med Inflammation* 2010, ID 792393
24. Scotece, M. Adiponectin and Leptin: New Targets in Inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2014; 114:97–102.
25. Wertheimer SJ, Myers CL, Wallace RW, Parks TP. Intercellular adhesion molecule-1 gene expression in human endothelial cells. Differential regulation by tumor

necrosis factor- alpha and phorbol myristate acetate. J Biol Chem 1992;267(17):12030-5.

26. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone L, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse ob gene and its human homologue. Nature 1994; 372: 425-432.
27. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. Circulation 2000; 102: 1296-301.
28. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint FAO/WHO Expert consultation. World Health Organ Tech Rep Ser 2003; 916:1- 149.
29. Montague CT, Farooqui S, Whitehead JP, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early onset obesity in humans. Nature 1997; 387: 903-908.
30. Tartaglia L.A. The leptin receptor. J Biol Chem 1997; 272: 6093-6096.
31. Ghilardi N, Skoda RC. The leptin receptor activates Janus tyrosine kinase 2 and signals for proliferation in a factor-dependent cell line. Molecular Endocrinol 1997; 11: 393-399
32. Harvey J, Ashford ML. Leptin in the CNS: much more than a satiety signal. Neuropharmacol 2003; 44: 845-854.
33. Seufert J. Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. Diabetes 2004; 53 Supl. 1: 152-158
34. Bruning Jc, Gautam D, Burks DJ, Schubert M, Orban PC, Klein R Krone W, Muller-Wieland D. Kahn CR. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. Science 2000; 289(5487):2122.5
35. Pirisi A. Leptin linked to blood clots in obesity. The Lancet 2002; 359: 1215
36. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 1595-9.
37. Ouchi N, Kihara S, Funashashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, et al. Reciprocal association of C reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. Circulation 2003; 107: 671-4.

38. Jansson PA, Pellme F, Hammarstedt A, Sandqvist M, Brekke H, Caidahl K, et al. A novel cellular marker of insulin resistance and early atherosclerosis in humans is related to impaired fat cell differentiation and low adiponectin. *FASEB J* 2003; 17: 1434-40.
39. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*. 2001;7(8):947-53. doi: 10.1038/90992
40. Evans RM, Barish GD, Wang YX. PPARs and the complex journey to obesity. *Nat Med*. 2004; 10, 355–361.
41. Gregoire F, Smas C, Sook Sul H. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Reviews*, 1998; 78: 783-809
42. Cunningham D, Danley D, Geoghegan K, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. *Nat Struct Mol Biol* 2007;14:413-419. <http://dx.doi.org/10.1038/nsmb1235>
43. Urban D, Pöss J, Böhm M, Laufs U. Targeting the proprotein convertase subtilisin/kexin. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:1401-1408. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.07.05>
44. Sidik SM. Diabetes and obesity are rising globally - but some nations are hit harder. *Nature*. 2023 Mar 7. doi: 10.1038/d41586-023-00676-z. Epub ahead of print.
45. Ferrari F, Stein R, Motta MT, Moriguchi EH. PCSK9 Inhibitors: Clinical Relevance, Molecular Mechanisms, and Safety in Clinical Practice. *Arq Bras Cardiol*. 2019;112(4):453-460.
46. Rojas-Martínez R, Basto-Abreu A, Aguilar-Salinas CA, Zárate-Rojas E, Villalpando S, Barrientos-Gutiérrez T. Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México [Prevalence of previously diagnosed diabetes mellitus in Mexico.]. *Salud Publica Mex*. 2018;60(3):224-232.
47. Farbstein D, Levy AP. HDL dysfunction in diabetes: causes and possible treatments. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2012;10(3):353-61.
48. Vergès B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia*. 2015;58(5):886-99.

49. Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Rull J, Villalpando S, Barquera S, Rojas R. Prevalence of dyslipidemias in the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex.* 2010;52 Suppl 1:S44-53.
50. Engin A. Endothelial Dysfunction in Obesity. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:345-379.
51. Mengozzi A, Masi S, Virdis A. Obesity-Related Endothelial Dysfunction: moving from classical to emerging mechanisms. *Endocrine and Metabolic Science.* 2020;1(3-4):100063.
52. Alzamil H. Elevated Serum TNF- α Is Related to Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus and Is Associated with Glycemic Control and Insulin Resistance. *J Obes.* 2020;2020:5076858.
53. Saeed Majeed HM, Abdul-Hassan AA; Shakir Khudair M. The role of TNF α in type2 diabetes mellitus. *Revis Bionatura.* 2022;7(2) 32-38.
54. Zarate A, Manuel-Apolinar L, Basurto L, De la Chesnaye E. *Arch Cardiol Méx* 2016;86(2):163-169. <https://doi.org/10.1016/j.acmx.2015.12.002>
55. Manuel-Apolinar L, López-Romero R, Zarate A, Damasio L, Ruiz M, Castillo-Hernández C, Guevara G, Mera-Jiménez E. Leptin mediated ObRb receptor increases expression of adhesion intercellular molecules and cyclooxygenase 2 on murine aorta tissue inducing endothelial dysfunction. *Int J Clin Exp Med.* 2013;6(3):192-6. Epub 2013 Mar 21. PMID: 23573350
56. Bharadwaj A, Bydoun M, Holloway R, Waisman D. Annexin a2 heterotetramer: Structure and function. *Int J Mol Sci.* 2013;14:6259---305.
57. Bruder-Nascimento T, Faulkner JL, Haigh S, Kennard S, Antonova G, Patel VS, Fulton DJR, Chen W, Belin de Chantemèle EJ. Leptin Restores Endothelial Function via Endothelial PPAR γ -Nox1-Mediated Mechanisms in a Mouse Model of Congenital Generalized Lipodystrophy. *Hypertension.* 2019;74(6):1399-1408.
58. Koborová I, Gurecká R, Csongová M, Volkovová K, Szökő É, Tábi T, Šebeková K. Association between metabolically healthy central obesity in women and levels of soluble receptor for advanced glycation end products, soluble vascular adhesion protein-1, and the activity of semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Croat Med J.* 2017;58(2):106-116.
59. Bandaru P, Shankar A. Association between plasma leptin levels and diabetes

- mellitus. *Metab Syndr Relat Disord*. 2011; 9(1):19-23.
60. Habas K, Shang L. Alterations in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in human endothelial cells. *Tissue Cell*. 2018;54:139-143.
61. Mulhem A, Moulla Y, Klötting N, Ebert T, Tönjes A, Fasshauer M, Dietrich A, Schön MR, Stumvoll M, Richter V, Blüher M. Circulating cell adhesion molecules in metabolically healthy obesity. *Int J Obes* 2021;45(2):331-336.
62. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Horikami K, Hirao K, Ueki Y, Miyake S. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2002;51(7):932-4.
63. Carugo S, Sirtori CR, Corsini A, Tokgozoglu L, Ruscica M. PCSK9 Inhibition and Risk of Diabetes: Should We Worry? *Curr Atheroscler Rep*. 2022;24(12):995-1004.
64. Momtazi AA, Banach M, Pirro M, Stein EA, Sahebkar A. PCSK9 and diabetes: is there a link? *Drug Discov Today*. 2017;22(6):883-895.
65. Ugovšek S, Šebeštjen M. Non-Lipid Effects of PCSK9 Monoclonal Antibodies on Vessel Wall. *J Clin Med*. 2022; 11(13):3625.
66. Katsuki S, K Jha P, Lupieri A, Nakano T, Passos LSA, Rogers MA, Becker-Greene D, Le TD, Decano JL, Ho Lee L, Guimaraes GC, Abdelhamid I, Halu A, Muscoloni A, V Cannistraci C, Higashi H, Zhang H, Vromman A, Libby P, Keith Ozaki C, Sharma A, Singh SA, Aikawa E, Aikawa M. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 (PCSK9) Promotes Macrophage Activation via LDL Receptor-Independent Mechanisms. *Circ Res*. 2022; 131(11):873-889.
67. Dounousi E, Tellis C, Pavlaku P, Duni A, Liakopoulos V, Mark PB, Papagianni A, Tselepis AD. Association between PCSK9 Levels and Markers of Inflammation, Oxidative Stress, and Endothelial Dysfunction in a Population of Nondialysis Chronic Kidney Disease Patients. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:6677012.
68. Wang Q, Zheng B, Chen P, Lei Y. Leptin and PCSK9 concentrations are associated with vascular endothelial cytokines in patients with stable coronary heart disease. *Open Med (Wars)*. 2022;17(1):185-190.
69. Tavori H, Fan D, Blakemore JL, Yancey PG, Ding L, Linton MF, Fazio S. Serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and cell surface low-density lipoprotein

receptor: evidence for a reciprocal regulation. *Circulation*. 2013;127(24):2403-13.

70. Seidah N.G., Chrétien M., Mbikay M.. The ever-expanding saga of the proprotein convertases and their roles in body homeostasis: emphasis on novel proprotein convertase subtilisin kexin number 9 functions and regulation. *Curr Opin Lipidol* 2018; 29:144-150. <http://dx.doi.org/10.1097/MOL.0000000000000484>
71. Wang Y, Cheng YS, Yin XQ, Yu G, Jia BL. AnxA2 gene silencing attenuates obesity-induced insulin resistance by suppressing the NF- κ B signaling pathway. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019;316:C223-34.
72. Salameh A, Daquinag AC, Staquicini DI, An Z, Hajjar KA, Pasqualini R, et al. Prohibitin/annexin 2 interaction regulates fatty acid transport in adipose tissue. *JCI Insight*. 2016;1:e86351.

18. ANEXOS

18.1 Autorización de Proyecto

5/10/2021

SIRELCIS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3703**.
U MED FAMILIAR NUM 21

Registro COFEPRIS **17 CI 09 017 017**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 003 20190403**

FECHA **Martes, 05 de octubre de 2021**

Dr. Cecilia Violeta Lucio De la Rosa

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **ANALIZAR LA RELACIÓN ENTRE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y PCSK9 EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional

R-2021-3703-132

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. PAULA AVALOS MAZA
Presidenta del Comité Local de Investigación en Salud No. 3703

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SALUD SOCIAL

18.2 Carta de Consentimiento Informado



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN
PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN**

| | |
|---|--|
| Nombre del estudio: | ANALIZAR LA RELACION ENTRE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y PCSK9 EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2 |
| Patrocinador externo (si aplica)*: | NO APLICA |
| Lugar y fecha: | UMF 18. IMSS. Av. México no. 98 entre av. Toluca Col. Santa Teresa. Contreras C.P. 10700, Ciudad de México. _____ de _____ de 2021. |
| Número de registro: | |
| Justificación y objetivo del estudio: | Lo estamos invitando a participar en una investigación para analizar en pacientes con obesidad y diabetes algunas sustancias que están relacionadas con las grasas del organismo (lípidos), una de estas conocidas como proteína enzimática que está presente en la sangre y tiene actividad en lípidos y también con la inflamación. Queremos estudiarla con el fin de disminuir las complicaciones de la diabetes a largo plazo. El objetivo del estudio es analizar en pacientes con obesidad y diabetes, sustancias que están relacionadas con los lípidos, una de estas conocidas como proteína enzimática, además, analizar si tienen relación con la inflamación, y se tiene el fin de estudiarlos antes de las complicaciones de la diabetes a largo plazo. |
| Procedimientos: | Si acepta participar se le harán algunas preguntas en relación a la enfermedad. Se tomara una muestra de sangre de aproximadamente 5 mililitros de manera similar al que se le hace en el laboratorio clínico, para analizar los lípidos, proteínas y las sustancias relacionadas a la inflamación en su muestra de sangre. |
| Posibles riesgos y molestias: | Algunas de las posibles molestias en la toma de sangre sería un moretón en el lugar de toma de la muestra, siendo un riesgo mínimo. |
| Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: | Su participación en este estudio no implica ningún riesgo agregado a su salud, además, el beneficio directo, los resultados permitirán para saber el control de su diabetes con las mediciones que se harán, además, que ayudará a otros pacientes con la misma condición clínica en el futuro. |
| Información sobre resultados y alternativas de tratamiento: | Si usted lo desea puede mantenerse en contacto con el investigador responsable para la obtención de información con respecto al uso de su información y la publicación final de su caso. |
| Participación o retiro: | Usted es libre de decidir si participa en este estudio y podrá retirarse del mismo en el momento que lo desee. En caso si usted no desea participar, no se afectará su relación con nosotros y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del Instituto Mexicano del Seguro Social |
| Privacidad y confidencialidad: | Los datos personales de su identidad y de historia clínica se realiza de una revisión privada, sin planes de uso de la información en forma pública o por lucro, guardándose la confidencialidad medica de los datos en todo momento TODO EL PROCESO ES COMPLETAMENTE CONFIDENCIAL |

En caso de colección de material biológico (si aplica):

| |
|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> |
| <input type="checkbox"/> |

No autorizo que se tome la muestra.

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable: Cecilia Violeta Lucio De La Rosa, Teléfonos. 5555682498, 5555682933, 5555682652 Ext 21455

UMF 18. IMSS. Av. México no. 98 entre av. Toluca Col. Santa Teresa. Contreras C.P. 10700

Colaboradores: Leticia Manuel Apolinar, Lina Ivette Medina Ortiz.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Testigo 1

Nombre, dirección, relación y
firma

Nombre y firma de quien obtiene el
consentimiento

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Clave: 2810-009-013

18.2 Hoja de recolección de datos

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ANALIZAR LA RELACION ENTRE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y PCSK9 EN
PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

| | | | | | |
|----------------------------|---|--|--------|---|------|
| Conteste según corresponda | | | Folio: | | |
| Nombre de paciente: | Fecha de ingreso a protocolo (dd/mm/aa) | | Género | | Edad |
| NSS: | | | F | M | |

| | | |
|-------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Fecha de consulta | Datos de contacto de paciente: | Tiempo de evolución de diabetes |
| UMF (dd/mm/aa) | Email: | |
| | Teléfono: | |
| | Cel: | |

| DATOS DE LA HISTORIA CLINICA (contestar si o no) | | | Observaciones |
|--|--------|--------|---------------|
| Antecedentes familiares de Diabetes | Si () | No () | |
| Alguna cirugía realizada en los últimos 3 meses | Si () | No () | |
| Tabaquismo | Si () | No () | |
| Alcoholismo | Si () | No () | |
| Hipertensión Arterial | Si () | No () | |
| Dislipidemia | Si () | No () | |
| Úlcera gastroduodenal | Si () | No () | |
| Enfermedad cardíaca | Si () | No () | |
| Hipotiroidismo | Si () | No () | |
| EPOC/Asma | Si () | No () | |
| Complicación crónica de DM | Si () | No () | |
| Covid-19 (moderado, severo) | Si () | No () | |
| Otra | Si () | No () | |

| MEDICIONES ANTROPOMETRICAS (unidades según corresponda) | | Observaciones |
|---|--|---------------|
| Peso corporal (kg) | | |
| Talla (m) | | |
| IMC | | |
| Circunferencia cintura (cm) | | |

| Resultados de Laboratorio de UMF18 | | | |
|---|----------------------|----------------------|----------|
| Medición | Unidades de medición | Fecha de realización | Registro |
| Glucosa | mg/dL | | |
| Hb _{A1C} | % | | |
| Triglicéridos | mg/dL | | |
| Colesterol Total | mg/dL | | |
| HDL | mg/dL | | |
| LDL | mg/dL | | |
| Hb _{A1C} Hemoglobina glucosilada | | | |

| Mediciones en Laboratorio de UIME Endocrinas | | |
|---|----------|----------|
| | Unidades | Registro |
| TNF- α (proinflamatoria) | pg/mL | |
| ICAM-1 (daño endotelial) | ng/ mL | |
| PCSK9 (alteración de lípidos) | ng/ mL | |
| Leptina (proinflamatoria) | ng/ mL | |
| | | |
| | | |

18.4 Difusión.

Presentation de resultados parciales en congresos

- LII Congreso Nacional Mexicano de Patología clínica 2022

The certificate is titled "CONSTANCIA" and is issued to Dr. Medina-Ortiz I, Rodriguez-Morales G*, Lucio- de la Rosa C, Jaimes-Aveladañes R, Manuel-Apolinar L. It recognizes their presentation of the work "ASOCIACIÓN DE PCSK9 CON DISFUNCION ENDOTELIAL MEDIANTE ICAM-1 EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES" at the LII Congreso Nacional Mexicano de Patología Clínica, held from November 02 to 05, 2022, in Mérida, Yucatán. The certificate is signed by three officials: Dra. Angelina Aburto Acosta (President of the Organizing Committee), Dr. Carlos Gabriel Diaz Olachea (President of the Clinical and Medical Pathology Laboratory), and Dr. en C. Juan Luis Bautista Martinez (Director of the Faculty of Clinical Sciences of the Benito Juárez University of Oaxaca).

 Congreso Nacional

Nacional Mexicano de Patología Clínica
del 02 al 05 de Noviembre
Mérida, Yucatán **2022**

Congreso

CONSTANCIA

Otorga la presente

Medina-Ortiz I, Rodriguez-Morales G*, Lucio- de la Rosa C, Jaimes-Aveladañes R, Manuel-Apolinar L

Por la presentación del trabajo de Investigación

Titulado: ASOCIACIÓN DE PCSK9 CON DISFUNCION ENDOTELIAL MEDIANTE ICAM-1 EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES

Durante las actividades en el LII Congreso Nacional Mexicano de Patología Clínica, llevado a cabo del 02 al 05 de noviembre de 2022, en la Ciudad de Mérida, Yucatán, México.

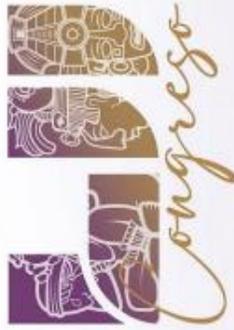

Dra. Angelina Aburto Acosta
PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR LII CONGRESO NACIONAL MEXICANO DE PATOLOGÍA CLÍNICA


Dr. Carlos Gabriel Diaz Olachea
PRESIDENTE DEL CONSEJO MEXICANO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y MEDICINA DE LABORATORIO A.C.


Dr. en C. Juan Luis Bautista Martinez
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA BENITO JUÁREZ DE OAXACA



Congreso Nacional



Nacional Mexicano de Patología Clínica

del 02 al 05 de Noviembre
Mérida, Yucatán 2022



Otorga la presente

CONSTANCIA

Rodríguez-Morales G*, Medina-Ortiz I, Lucio- de la Rosa C, Jaimes-AvelaÑes R, Manuel-Apolinar L

Por la presentación del trabajo de Investigación

Titulado: REDUCCION ANTIOXIDANTE Y AUMENTO DE ICAM-1 ASOCIADOS A DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTE CON OBESIDAD Y DIABETES

Durante las actividades en el **LII Congreso Nacional Mexicano de Patología Clínica,** llevado a cabo del 02 al 05 de noviembre de 2022, en la Ciudad de Mérida, Yucatán, México.

Dra. Angelina Aburto Acosta

PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR LII CONGRESO NACIONAL MEXICANO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

Dr. Carlos Gabriel Díaz Olachea

PRESIDENTE DEL CONSEJO MEXICANO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y MEDICINA DE LABORATORIO A.C.

Dr. en C. Juan Luis Bautista Martínez

DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA BENITO JUÁREZ DE OAXACA

-VIII Congreso Internacional de Avances de las mujeres en la ciencia, las humanidades y todas las disciplinas



Avances de las
MUJERES en **CIENCIAS**
en las Humanidades y todas las disciplinas



Lina Ivette Medina Ortiz
Cecilia Violeta Lucio De la Rosa
María de Lourdes Basurto Acevedo

16 de agosto de 2023

Selene Ángeles Mejía, Leticia Manuel Apolinar, Lina Ivette Medina Ortiz, Cecilia Violeta Lucio De la Rosa y María de Lourdes Basurto Acevedo
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas
CMN SXXI-IMSS
PRESENTE:

Tenemos el gusto de informarles que el Comité Científico y Académico ha dictaminado que su trabajo titulado:
Folio CBS_365 "Enfermedades metabólicas en mujeres mexicanas y su relación con PCSK9 asociado a disfunción endotelial"
Ha sido aceptado para ser presentado dentro del programa del **VIII Congreso Internacional de Avances de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y todas las Disciplinas. Que se llevará a cabo los días 23, 24 y 25 de agosto de 2023 en la UAM-Xochimilco, CDMX.**
Su trabajo se tiene contemplado que se presente en la segunda sesión de carteles del día 24 de agosto en el horario de 16:15 a 17:15 h. Edificio "S" Diseño Industrial. Agradecemos ampliamente su aportación y enviándole cordiales saludos, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"CASA ABIERTA AL TIEMPO"

Comité Organizador, Sección de Ciencias Biológicas y de la Salud

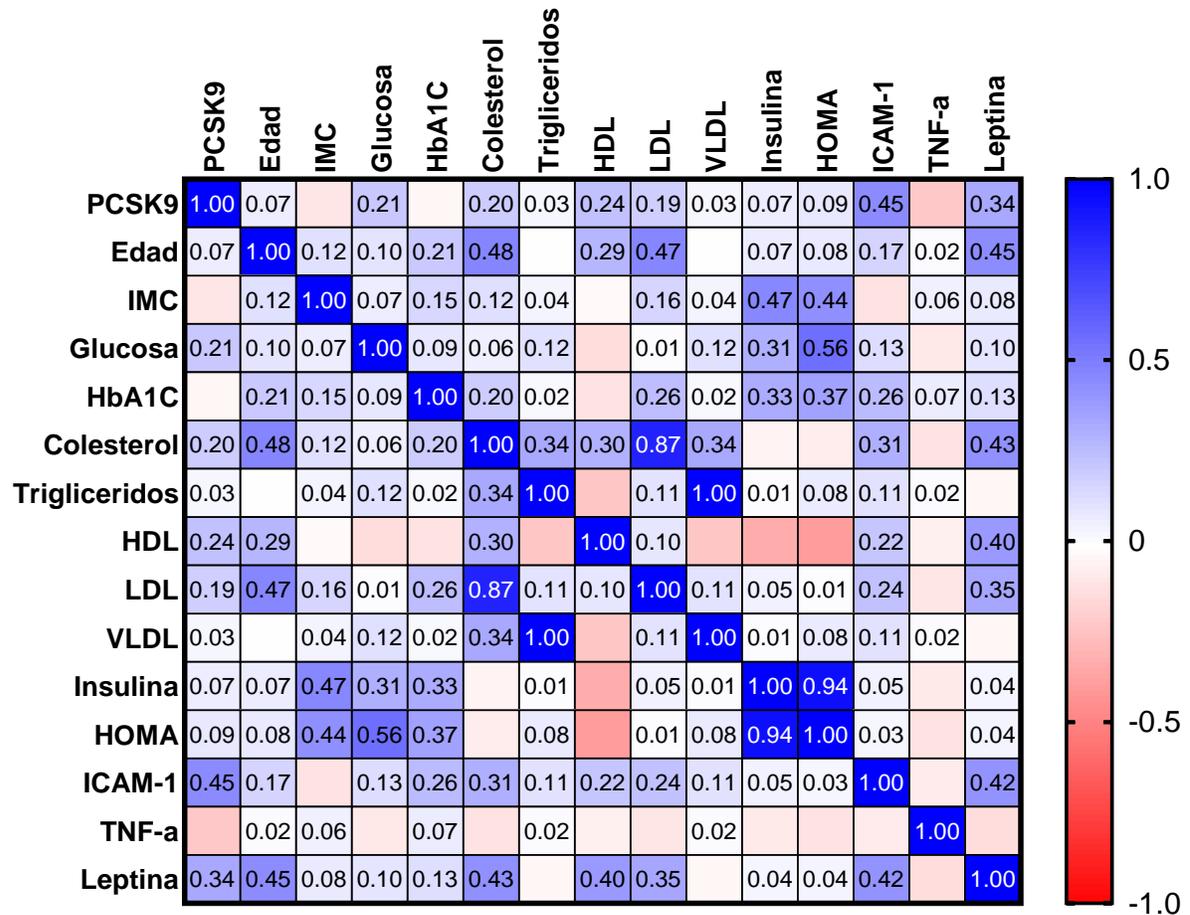
VIII Congreso Internacional de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y todas las Disciplinas
Universidad Autónoma Metropolitana



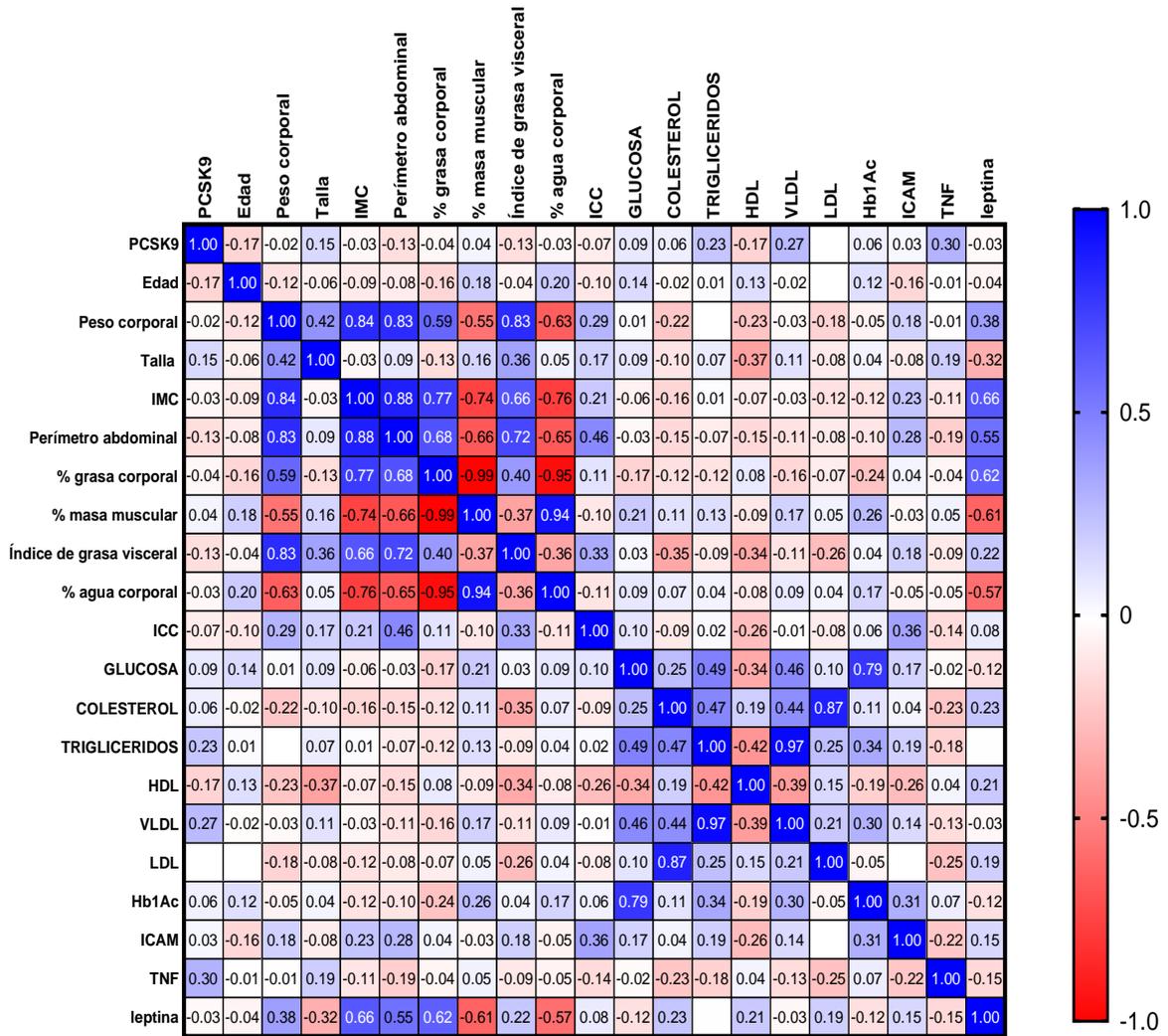
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
VIII CONGRESO INTERNACIONAL

18.5 Matriz de correlación de Pacientes DM y no DM

Grupo NoDM



Grupo DM



18.6 Colaboradores.

Alumnos de Servicio Social.

- Jamsir Gibran Rodriguez Morales, Médico Cirujano CICS-Unidad Milpa Alta.
- Evelin Arleth Ramirez Hernandez, Médico Cirujano Universidad Autónoma De Coahuila
- Jhoana Gisselle Gomez Garcia, Médico Cirujano Y Partero ESM-IPN
- Francisco Javier Laureano Hernandez, Médico Cirujano Y Partero ESM-IPN

