



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

---

**Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**

“Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico.”

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

Química Farmacéutica Bióloga

**PRESENTA:**

Alma Grisel Díaz Martínez

**ASESORA:**

M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez

**CO-ASESORAS**

Dra. Ma. De Lourdes Basurto Acevedo

Dra. Nydia Córdova Pérez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.

2012



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.

#### Agradecimientos:

A Dios:

Por permitirme estar en este mundo con personas maravillosas que él, a puesto en mi camino. Gracias!!

A mis padres:

Alejandro y Rosa, por todo el apoyo y confianza que me han brindado a lo largo de toda mi vida.

A mi hermana, Liz (gatito) por el cariño que me ha brindado en todo momento, aunque siempre estemos peleando T.Q.M.

A todos mis tíos, tías, primos, primas, por el apoyo que me brindaron, las palabras de aliento, que nunca faltaron, al igual que el humor negro que caracteriza a la familia, gracias.

A mis amigos Sac-nite, Pao, Martha, Mau, Ñaña, Mona, Potter, por todos aquellos momentos maravillosos que pasamos juntos y que a pesar que el tiempo ha hecho que nos separemos, siempre están en mi mente y en mi corazón.

A mis compañeros del verano de investigación, que aunque el tiempo que convivimos fue poco siempre me apoyaron, los extraño mucho !!.

A mis nuevos amigos Edith, María de Jesús, Jorge por recordarme que no todo es trabajo y que siempre hay que tener tiempo para reír, platicar, y por qué no jugar un poco. Gracias!!

A la M en C Ana Laura Vázquez Martínez, Dra. Ma. Lourdes Basurto Acevedo y la Dra. Nydia Córdova Pérez, por la dedicación y esfuerzo en la asesoría para la elaboración de este proyecto, mil gracias.

A la Dra. Renata Saucedo, Dra. Sara Vega, Q. Alberto Rocha, Dr. Marcelino Hernández, por todo el apoyo académico y personal que me dieron durante esta etapa de mi vida, gracias.

A todo el personal de la unidad de Investigación Médica de enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

## **1. ÍNDICE GENERAL**

---

1. ÍNDICE GENERAL	3
2. ÍNDICE DE TABLAS Y CUADROS	10
3. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS	7
4. ABREVIATURAS	11
5. INTRODUCCIÓN	15
5.1. SÍNDROME METABÓLICO	15
5.1.1. Historia	15
5.1.2. Definición	16
5.1.3. Componentes del síndrome metabólico	17
5.1.3.1. Obesidad	17
5.1.3.2. Hipertensión arterial	17
5.1.3.3. Dislipidemias y factores de riesgo cardiovascular	17
5.1.4. Criterios de diagnóstico	18
5.1.4.1. Clasificación del grupo europeo para el estudio de la insulinoresistencia (EGIR)	18
5.1.4.2. Federación Internacional de Diabetes del 2006 (IDF)	19
5.1.5. Epidemiología	21
5.1.6. Fisiopatología	22
5.2. INSULINORRESISTENCIA	23
5.2.1. Definición	23
5.2.2. Epidemiología	24
5.2.3. Fisiopatología	24
5.2.4. Métodos de detección de resistencia a la insulina	27
5.3. RIESGO CARDIOVASCULAR	28
5.3.1. Generalidades	28
5.3.2. Epidemiología	28
5.3.2.1. Dislipidemias	29
5.3.2.2. Obesidad	29
5.3.2.3. Hipertensión	29
5.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL	31
5.4.1. Generalidades	31
5.4.2. Arterias	33
5.4.3. Venas	34
5.4.4. Endotelio	35
5.4.4.1. Funciones del endotelio	36
5.4.4.2. Disfunción del endotelio:	38
5.4.4.2.1. Disfunción Endotelial en la Menopausia	39
5.4.4.2.2. Disfunción Endotelial en Hipercolesterolemia	40
5.4.4.2.3. Disfunción Endotelial en Hipertrigliceridemia	42
5.5. ATROSCLEROSIS	42
5.5.1. Generalidades	42
5.5.2. Definición	43
5.5.3. Formación de placa ateromatosa	43
5.5.4. Fisiopatología	45
5.5.5. Población afectada	46
5.6. CASCADA DE COAGULACIÓN	47
5.6.1. Generalidades de hemostasia	47
5.6.2. Coagulación sanguínea	49

5.6.3. Modelo celular de la coagulación	50
5.6.3.1. Fases del modelo celular de la coagulación	51
5.6.4. Fisiología de la hemostasia	52
5.6.5. Fibrinólisis o sistema de activación plasminógeno/plasmina	54
5.6.6. Inhibidor de Activador de Plasminógeno (PAI-1)	56
5.6.6.1. Aterosclerosis, Infarto al miocardio y Trombosis venal	57
5.6.6.2. PAI-1 y el síndrome de resistencia a la insulina y obesidad	58
5.7. MENOPAUSIA	60
5.7.1. Definición	60
5.7.2. Climaterio	60
5.7.3. Signos y síntomas relacionados con el climaterio	62
5.7.4. Alteraciones metabólicas de la menopausia	62
5.7.5. Menopausia y peso corporal	64
5.7.6. Alteraciones Cardiovasculares en las mujeres menopáusicas	65
5.8. TEJIDO ÓSEO	67
5.8.1. Definición	67
5.8.2. Composición del hueso normal	68
5.8.2.1. Componentes no celulares	69
5.8.2.2. Componentes celulares	69
5.8.3. Remodelado óseo	71
5.8.3.1. Factores reguladores del remodelado óseo	72
5.8.4. Marcadores bioquímicos del metabolismo óseo	77
5.8.4.1. Marcadores de formación ósea	78
5.8.5. Osteocalcina (BGP)	80
5.8.5.1. Generalidades	80
5.8.5.2. Niveles séricos	81
5.8.5.3. Síntesis de la osteocalcina	82
5.9. TRATAMIENTO DEL SÍNDROME METABÓLICO	84
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	85
7. HIPÓTESIS	85
8. OBJETIVOS	86
8.1. Objetivo general	86
8.2. Objetivos particulares	86
9. JUSTIFICACIÓN	87
10. MATERIALES Y MÉTODOS	88
10.1. Lugar donde se realizó el estudio	88
10.2. Diseño de investigación	88
10.3. Universo de trabajo	88
10.3.1. Grupo de estudio	88
10.3.1.1. Criterios de inclusión	88
10.3.1.2. Criterios de exclusión	89
10.3.1.3. Criterios de eliminación	89
10.4. Variables	89
10.4.1. Independiente	89
10.4.2. Dependientes	89
10.5. Descripción general del estudio	89
10.5.1. Evaluación clínica y antropométrica	90
10.6. Manejo y atención del paciente	91
10.6.1. Toma de muestra	92
10.6.2. Análisis corporal	94

10.6.3. Análisis bioquímico	96
10.6.3.1. Determinación cuantitativa de Glucosa	96
10.6.3.1.1. Principio del método	96
10.6.3.1.2. Reactivos	97
10.6.3.1.3. Procedimiento	97
10.6.3.1.4. Cálculos	97
10.6.3.1.5. Valores de referencia	97
10.6.3.1.6. Significado clínico	98
10.6.3.2. Determinación de Colesterol total	98
10.6.3.2.1. Principio del método	98
10.6.3.2.2. Reactivos	98
10.6.3.2.3. Procedimiento	99
10.6.3.2.4. Cálculos	99
10.6.3.2.5. Valores de referencia	99
10.6.3.2.6. Significado clínico	99
10.6.3.3. Determinación cuantitativa de Colesterol HDL	100
10.6.3.3.1. Principio del método	100
10.6.3.3.2. Reactivos	100
10.6.3.3.3. Procedimiento	100
10.6.3.3.4. Cálculo de LDL	100
10.6.3.3.5. Valores de referencia	100
10.6.3.3.6. Significado clínico	101
10.6.3.4. Determinación de Triglicéridos	101
10.6.3.4.1. Principio del método	101
10.6.3.4.2. Reactivos	102
10.6.3.4.3. Procedimiento	102
10.6.3.4.4. Cálculos	102
10.6.3.4.5. Valores de referencia	103
10.6.3.4.6. Significado clínico	103
10.6.3.5. Determinación de HbA1	103
10.6.3.5.1. Principio del método	103
10.6.3.5.2. Reactivos	104
10.6.3.5.3. Procedimiento	105
10.6.3.5.4. Cálculos	105
10.6.3.5.5. Valores de referencia	106
10.6.3.5.6. Significado clínico	106
10.7. Quimioluminiscencia en la determinación de Osteocalcina	106
10.7.1. Principio del método de OCN	107
10.7.2. Reactivos	108
10.7.3. Procedimiento	108
10.7.4. Cálculos	108
10.7.5. Valores de referencia	108
10.7.6. Significado clínico	109
10.8. Determinación del Inhibidor Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1)	109
10.8.1. Principio del método	110
10.8.2. Reactivos	111
10.8.3. Procedimiento	111
10.8.4. Cálculos	113
10.8.5. Valores de referencia	114
10.8.6. Significado clínico	114

10.9. Análisis estadístico	114
10.10. Aspectos éticos	114
10.11. Recursos	115
10.11.1. Humanos	115
10.11.2. Materiales	115
11. RESULTADOS	116
12. ANÁLISIS DE RESULTADOS	123
13. CONCLUSIONES	126
14. BIBLIOGRAFÍA	127
15. ANEXOS	143
15.1. Carta de consentimiento informado	143
15.2. Hoja de recolección de datos	144
15.3. Preparación de reactivos para la determinación de PAI-1	145

## **2.- ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS**

---

Figura 1: Diferentes componentes del síndrome metabólico	18
Figura 2: Progresión del síndrome metabólico	22
Figura 3: Patogenia y consecuencias del síndrome metabólico	25
Figura 4: Ciclo de Randle o de la glucosa-ácido graso	27
Figura 5: Fisiopatología del síndrome metabólico y su relación con el riesgo cardiovascular.	30
Figura 6: Estructura de la pared de una arteria	33
Figura 7: Diagrama esquemático de la pared de una arteria elástica que ilustra sus componentes celulares y extracelulares.	34
Figura 8: Diagrama esquemático de la pared de una vena mediana.	35
Figura 9: Diagrama y micrografía electrónica de barrido del endotelio.	35
Figura 10: Diagrama que ilustra partes de dos células endoteliales contiguas.	36
Figura 11: Actividad metabólica de las células del endotelio.	38
Figura 12: Proceso aterogénico.	41
Figura 13: Diagrama de proliferación de LDL y células espumosas.	41
Figura 14: Diagrama de placa ateromatosa.	43
Figura 15: Desarrollo de las placas ateroscleróticas.	44
Figura 16: Esquema de la formación de placa ateromatosa.	45
Figura 17: Cascada de la coagulación.	49
Figura 18: Esquema del modelo celular de la coagulación.	51
Figura 19: Fases de la coagulación según la nueva cascada.	52
Figura 20: Síntesis de tromboxano A <sub>2</sub> y PGI <sub>2</sub> por vía de la ciclooxigenasa	53
Figura 21: Fibrinólisis medida por la plasmina e interacción de uPA, uPAR, integrinas, vías de señalización y MEC.	55



Figura 22: Proceso de fibrinólisis mediada por plasmina y cascada de coagulación.	55
Figura 23: Esquema de la aparición del ciclo menstrual a través de símbolos de banderas, durante la vida reproductiva y la transición de la menopausia.	60
Figura 24: Distribución de grasa corporal.	65
Figura 25: Composición y tipos de hueso.	67
Figura 26: Componentes del tejido óseo.	68
Figura 27: Componentes celulares del hueso.	71
Figura 28: Remodelado óseo.	73
Figura 29: Representación esquemática de la interrelación entre células óseas, sistema vascular, tejido adiposo y metabolismo energético.	80
Figura 30: Osteocalcina	80
Figura 31: Estructura de la osteocalcina inducida por $Ca^{2+}$ y su posible interacción con el $Ca^{2+}$ del cristal de hidroxapatita.	82
Figura 32: Biosíntesis de osteocalcina en el osteoblasto.	84
Figura 33: Sistema BD Vacutainer <sup>MR</sup> de toma múltiple.	93
Figura 34: Código de colores en tubos.	93
Figura 35: Analizador de Composición Corporal ioi 353 JAWON	95
Figura 36: Postura correcta	95
Figura 37: Sujeción correcta de electrodos	96
Figura 38: Postura correcta.	96
Grafica 1: Porcentaje del IMC en la población estudiada	116
Grafica 2: Frecuencia de SM en pacientes en estudio.	117
Gráfica 3. Frecuencia de SM en los subgrupos de estudio.	117
Grafico 4.- Frecuencia de los componentes del SM en la población.	118
Gráfica 5.- Comparación de niveles séricos de osteocalcina en pre y posmenopáusicas.	120
Gráfica 6.- Comparación de los niveles séricos de osteocalcina en mujeres premenopáusicas	120

Gráfica 7.- Comparación de los niveles séricos de osteocalcina en mujeres posmenopáusicas.	121
Gráfica 8.- Comparación de los niveles plasmáticos de PAI-1 en mujeres pre y posmenopáusicas.	121
Gráfica 9.- Comparación de los niveles séricos de PAI-1, en mujeres premenopáusicas	122
Gráfica 10.- Comparación entre los niveles séricos de PAI-1 en mujeres posmenopáusicas	122

### **3.- ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS**

---

Cuadro 1.- Criterios utilizados para el diagnóstico de síndrome metabólico.	20
Cuadro 2.- Características de las venas y arterias	32
Cuadro 3.-: Factores de coagulación, inhibidores y síntesis.	49
Cuadro 4: Fases de la hemostasia y elementos que la integran.	51
Cuadro 5: Eventos endocrinológicos durante el climaterio.	62
Cuadro 6: Signos y síntomas asociados al climaterio.	63
Cuadro 7: Diferencias entre las propiedades bioquímicas del tejido adiposo visceral y el subcutáneo.	64
Cuadro 8: Factores locales reguladores del remodelado óseo.	78
Cuadro 9: Marcadores del metabolismo óseo.	79
Cuadro 10: Escala de grados de obesidad de la OMS	93
Cuadro 11: Principio del test para la determinación de PAI-1	11
	1
Tabla 1.- Características de la población	12
	0

#### **4.- ABREVIATURAS**

---

**ADP:** Adenosín Difosfato.

**AG:** Ácidos Grasos.

**AGL:** Ácidos Grasos Libres.

**AHA:** Asociación Americana del corazón.

**Apo B:** Lipoproteína B.

**RNA<sub>m</sub>:** Ácido Ribonucleico mensajero.

**AT-II:** Angiotensina II.

**ATPIII:** Panel de Expertos del Programa Nacional de Educación del Colesterol sobre Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipercolesterolemia en los Adultos.

**BGP:** Proteína GLA ósea.

**BMP-2:** Proteínas Morfogénicas de hueso tipo 2.

**CD40L:** Cúmulo de diferenciación 40L

**CFU-GM:** Unidad de Formación de colonias de Granulocitos y Macrófagos.

**CI:** Cardiopatía Isquémica.

**CID:** Coagulación Intravascular Diseminada.

**CIMT:** Grosor Intima-Media Carotídeo.

**CSF:** Factor Estimulante de Colonias.

**CXCR3:** Quimiocinas del receptor 3 (motivo C-X-C)

**DLP:** Dislipidemia.

**DM2:** Diabetes Mellitus 2.

**DMO:** Densidad Mineral Ósea.

**ECA:** Enzima Convertidora de Angiotensina.

**EGIR:** Grupo Europeo para el Estudio de la Insulinorresistencia.

**ENA-78:** Neutrófilo Activador del Péptido 78.

**eNOS:** enzima del Óxido Nítrico Sintasa .

**ENSANUT:** Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.

**ET-1:** Endotelina 1.

**ETE:** Ecocardiograma Transesofágico.

**FGF:** Factor de Crecimiento de Fibroblasto.

**FSH:** Hormona folículo estimulante

**FVW:** Factor de von Willebrand.

**GH:** Hormona somatotropa.

**GLUT-4:** Transportadora de Glucosa tipo 4.

**GM-CSF:** Factor Estimulante de Colonias de Monocitos y macrófagos.

**Gp:** Glucoproteínas.

**HDL:** Lipoproteína de alta densidad.

**HOMA:** Evaluación del Modelo Homostático

**HTA:** Hipertensión Arterial.

**HRP:** Enzima peroxidasa de rábano

**ICAM-1:** Moléculas de Adhesión Intracelular 1

**IDF:** Federación Internacional de Diabetes

**IGF-I y II:** Factor de Crecimiento similar a la insulina tipo 1 y tipo 2

**IGFs:** Factor de crecimiento insulínico.

**IL:** Interleucina.

**IM:** Infarto al Miocardio.

**IMC:** Índice de Masa Corporal.

**IR:** Insulinorresistencia, o RI resistencia a la insulina.

**IRS-1:** Sustrato del Receptor de Insulina tipo 1.

**LDL:** Lipoproteína de baja densidad

**LFA-1:** Linfocitos Asociados al Antígeno 1.

**LFA-3:** Linfocitos Asociados al Antígeno 3.

**LH:** Hormona Luteinizante.

**LIF:** Factor Inhibidor leucémico.

**Lp A:** Lipoproteína A.

**MAPcinasa:** Protein cinasa Activadora por Mitógenos.

**MCP-1:** Proteína Quimiotáctica del Monocito.

**M-CSF:** Factor Estimulante de Colonias de Macrófagos.

**MBF:** Grasa Corporal Total

**MEC:** Membrana Extra Celular.

**MLV:** Musculo Liso Vascolar.

**NCEP:** Programa Nacional en Educación sobre Colesterol.

**NLHBI:** Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y sangre de los Estados Unidos.

**NO:** Oxido Nítrico.

**OCN:** Osteocalcina.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**OPG:** Osteoprotegerina.

**PA:** Presión arterial.

**PAI-1:** Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1.

**PAs:** Activadores de Plasminógeno.

**PDGF:** Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas.

**PET:** Tomografía de Emisión de Positrones.

**PICP:** PropeptidoCarboxiterminal del Procolágeno tipo 1.

**QUICKI:** (Quantitative Insulin Sensitivity and CheckIndex) Revisión del índice cuantitativo a la sensibilidad de la insulina.

**RANKL:** Ligando del receptor activador para el factor nuclear  $\kappa\beta$ .

**RANTES (CCL5):** Regulador de la activación de células T normales expresadas y secretadas por las Quimiocinas del ligando 5 (motivo C-C)

**RIA:** Radioinmunoensayo

**RM:** Resonancia magnética.

**Rx:** Radiografía.

**sICAM-1:** Moléculas de Adhesión Intracelular soluble 1.

**SIR:** Síndrome de Insulinorresistencia.

**SM:** Síndrome Metabólico.

**sVCAM-1:** Moléculas de Adhesión de Célula Vasculare soluble 1.

**TAC:** Tomografía Computarizada.

**TG:** Triglicéridos

**TGF- $\beta$ :** Factor de Crecimiento Transformable  $\beta$ .

**TMB:** Treta metil dencidina

**TNF- $\alpha$ :** Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$ .

**tPA:** Activador del Plasminógeno tipo tisular.

**Tx A2:** Tromboxano A2

**uPA:** Activador del Plasminógeno tipo urocinasa.

**uPAR:** Receptor específico para el activador de plasminógeno tipo urocinasa

**VCAM-1:** Moléculas de Adhesión de Célula Vasculare 1

**VFA:** Grasa Visceral Abdominal

**VLDL:** Lipoproteína de muy baja densidad.

*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

---

*Dejamos de temer aquello que aprendimos a entender.*

*Marie Curie (1867-1934)*

## 5.- INTRODUCCIÓN.

---

### 5.1. Síndrome metabólico

#### 5.1.1. Historia

Las primeras descripciones de la asociación existente entre diversas situaciones clínicas como la diabetes mellitus 2 (DM2), la hipertensión arterial (HTA) y la dislipidemia (DLP) datan de la década de los 20 del siglo pasado, aunque el término "síndrome metabólico" se usaba a finales de los 70's para designar solo a factores de riesgos asociados con diabetes. Un hallazgo interesante por Marsella Jean Vague, en 1947 y luego en 1956, demostró que las personas con obesidad estaban predispuestas a tener en el futuro diabetes, aterosclerosis, hipertrofia de la tiroides y cálculos urinarios (1).

Para la segunda mitad de los años 1960, Avogaro y Crepaldi describieron a seis pacientes con obesidad moderada, hipercolesterolemia y una marcada hipertrigliceridemia, estos signos mejoraron con una dieta hipocalórica y la disminución en la ingesta de carbohidratos. En 1977, Haller empleó el término "síndrome metabólico" (SM) para referirse a una asociación entre obesidad, DM2 e hígado graso, describiendo además los factores de riesgo para el desarrollo de la arteriosclerosis. Posteriormente Gerald B. Phillips argumentó que los factores de riesgo subyacentes a un infarto de miocardio contribuyen a formar una constelación de anomalías no sólo asociados con enfermedades del corazón, sino también con la obesidad y otros factores clínicos, y que su identificación podría prevenir enfermedades cardiovasculares (2).

Sin embargo, fue Gerald Reaven quien sugirió, en 1988, que estos factores tendían a ocurrir en un mismo individuo en forma de un síndrome que denominó "X" en el que la resistencia a la insulina constituía el mecanismo fisiopatológico básico, proponiendo 5 consecuencias de ésta, todas ellas relacionadas con un mayor riesgo de enfermedad coronaria, cardiopatía isquémica, disfunción ventricular izquierda y fallo cardiaco. Los componentes originales del Síndrome X de Reaven eran:

- ✓ Resistencia a la captación de glucosa mediada por insulina
- ✓ Intolerancia a la glucosa
- ✓ Hiperinsulinemia
- ✓ Aumento de triglicéridos en las VLDL
- ✓ Disminución del colesterol tipo HDL
- ✓ Hipertensión arterial

A lo largo de los años, se ha ido añadiendo más componentes a la definición de este síndrome, a la vez que comenzó a recibir nuevas denominaciones como Síndrome X plus, Cuarteto mortífero, Síndrome plurimetabólico, síndrome de insulinoresistencia, entre otros. En 1998, un grupo consultor de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso que se denominara SM y sugirió una definición de trabajo que sería la primera definición unificada



del mismo. En 1998, el Grupo de Trabajo de Diabetes de la Organización Mundial de la Salud propuso un conjunto de criterios para el diagnóstico del SM. El diagnóstico debía incluir evidencias clínicas de insulinorresistencia (IR) (intolerancia a la glucosa o diabetes) más otros dos factores de riesgo entre los siguientes:

- 1) Triglicéridos elevados o HDL colesterol bajo
- 2) Presión arterial (PA) elevada
- 3) Obesidad, definida por el índice de masa corporal (IMC) o por la relación cintura cadera
- 4) Microalbuminuria.

El Grupo Europeo para el Estudio de la Insulinorresistencia (EGIR) propuso criterios conceptualmente similares para el diagnóstico del síndrome de insulinorresistencia.



#### 5.1.2 Definición:

El SM es una serie de signos (factores de riesgo metabólico) que nos hablan del aumento de posibilidades de presentar una enfermedad cardíaca, un derrame (trombosis) o diabetes (3).

El SM es el resultado de una compleja interacción entre factores genéticos, metabólicos y ambientales, en los que la dieta parece jugar un papel importante (4).

Hasta el momento se han emitido varias definiciones para establecer el diagnóstico de SM; todas incluyen los mismos criterios; la diferencia estriba en considerar cuál es la manifestación más importante.

### 5.1.3. Componentes del síndrome metabólico



#### 5.1.3.1. Obesidad

La obesidad es el componente más común del SM. Es tal su importancia que la IDF la considera esencial para hacer el diagnóstico; también es imprescindible la presencia de circunferencia de cintura y el IMC, ambas variables tiene una correlación de  $r = 0.90$ . Esto significa que pueden ser utilizados en forma casi intercambiable. La obesidad y en forma más específica la grasa visceral, se relaciona con la resistencia a la insulina. El concepto de resistencia a la insulina implica que la acción de la insulina sobre los tejidos periféricos se encuentre disminuida y las personas con este problema también presentan mayor riesgo de DM2. El factor de necrosis tumoral (TNF  $\alpha$ ) se encuentra sobre expresado en tejido adiposo blanco. Una serie de proteínas proinflamatorias que actúan como reactantes de fase aguda aumentan en presencia de obesidad. La proteína C reactiva, fibrinógeno y la cuenta de células blancas se relacionan con resistencia a la insulina y son buenos marcadores de enfermedad cardiovascular (independientemente de la resistencia a la insulina). Además se ha observado que el inhibidor de la activación del plasminógeno (PAI-1), una proteína que participa en la fibrinólisis se encuentra aumentada en personas con obesidad. La obesidad y el síndrome metabólico pueden definirse como enfermedades asociadas a inflamación del endotelio, por lo que aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular. El aumento del tejido adiposo en nuestro cuerpo como consecuencia de las dietas hipercalóricas y el bajo gasto energético, y en particular el incremento de la grasa visceral abdominal, tienen un papel primordial en la patogenia y la morbilidad del SM. Se asocia de forma casi constante un aumento de la insulinemia y resistencia a su acción en tejidos periféricos

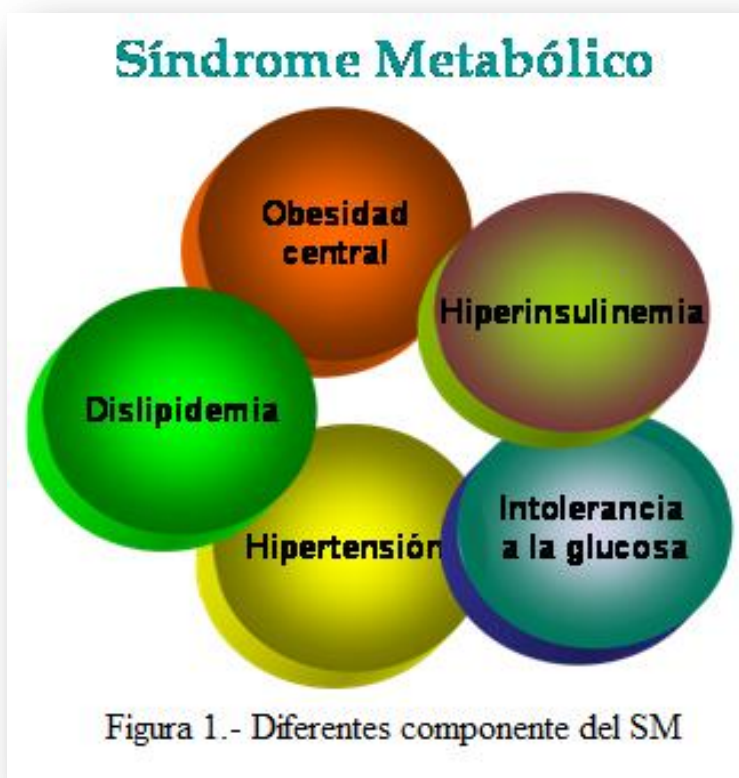
#### 5.1.3.2. Hipertensión arterial

La prevalencia de hipertensión arterial en México es de 30%; hay que resaltar que en población joven entre 20 a 29 años de edad la prevalencia es de 17%; las personas con obesidad muestran un aumento de tamaño de los riñones, lo que se debe a proliferación endotelial y depósitos intrarrenales de lípidos e hialuronato. Se considera que la obesidad promueve la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, con actividad del sistema simpático aumentada, y como resultado la presencia de hipertensión arterial.

#### 5.1.3.3. Dislipidemias y factores de riesgo cardiovascular

Los triglicéridos pueden elevarse debido a la obesidad, inactividad física, ingestión de alcohol, tabaquismo, dietas altas en carbohidratos. La hipertrigliceridemia también puede

acompañar a otras enfermedades como DM2, fallo renal o síndrome nefrótico. El colesterol HDL se considera disminuido cuando es menor de 40mg/dL para ambos sexos. Sin embargo cuando las mujeres tienen ese tipo de colesterol por debajo de 50mg/dL se les considera de alto riesgo. Cuando el colesterol HDL es mayor de 60mg/dL se considera un factor protector. Fumar sigue siendo un factor de riesgo muy importante que tiene fuerte relación con la enfermedad coronaria. Los factores de riesgo cardiovascular relacionados con el SM incluyen factores de riesgo no clásicos como la circunferencia de cintura y la glucemia. Los otros criterios del SM, corresponden a: la concentración de suero de triglicéridos, colesterol-HDL e hipertensión arterial. (6)



#### 5.1.4. Criterios de diagnósticos

##### 5.1.4.1. Clasificación del Grupo Europeo para el estudio de la insulinoresistencia. (EGIR)

Tiene un síndrome de insulinoresistencia (SIR) el paciente que cumpla con las siguientes condiciones y criterios: Hiperinsulinemia en ayunas > 25% y 2 o más de los siguientes criterios:

- 1) Glucosa en ayunas  $\geq 6.1$  mg/dL, pero no diabéticos.
- 2) Tensión arterial  $\geq 140/90$  mmHg
- 3) Triglicéridos  $\geq 2$  mg/dL o HDL colesterol < 1 mg/dL o tratamiento para la dislipidemia.

- 4) Circunferencia de la cintura  $\geq 94$  cm en el hombre y  $\geq 80$  cm en la mujer.

En 2001, el tercer informe del Panel de Expertos del Programa Nacional de Educación del Colesterol sobre Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipercolesterolemia en los Adultos (ATPIII) define al SM por la presencia de 3 de 5 criterios clínicos simples:

- 1) Perímetro de la cintura  $\geq 102$  cm en el varón u 88 cm en la mujer,
- 2) Triglicéridos  $\geq 150$  mg/dL,
- 3) HDL colesterol  $< 40$  mg/dL en el varón o de 50 mg/dL en la mujer,
- 4) PA  $\geq 130/85$  mmHg y
- 5) Glucemia  $> 110$  mg/dL.

#### 5.1.4.2. Federación Internacional de Diabetes del Consenso del 2006 (IDF)

- 1) Incremento en el perímetro central (medida de la cintura) en hombres ( $>90$  cm.) y mujeres ( $>88$  cm.).
- 2) Hipertrigliceridemia (triglicéridos  $\geq 150$ mg/dL)
- 3) Disminución del colesterol de alta densidad (HDL-col) (hombre  $< 40$  mg/dL y mujeres  $< 50$ mg/dL)
- 4) Presión arterial ( $\geq 130/85$  mmHg )
- 5) Glucosa en ayunas ( $\geq 100$ mg/dL )

En esta definición todas las anomalías están puestas en un mismo nivel, sin implicar relaciones de causa-efecto, ni considerar imprescindible un componente. Además pone de manifiesto la importancia de la grasa abdominal en la génesis del SM definiendo a la obesidad por un perímetro de la cintura mayor a determinados umbrales y no por el IMC. Recientemente la Asociación Americana del Corazón (AHA) en conjunto con el Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre de los Estados Unidos (NLHBI) han propuesto modificaciones menores a los criterios del ATPIII, bajando el umbral de glucemia a 100 mg/dL e incorporando como criterios los tratamientos para la dislipidemia, la PA y la hiperglucemia. En 2005, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) propuso nuevos criterios, similares a los del ATPIII, pero considerando a la obesidad central como una condición necesaria para el diagnóstico del SM y sugiriendo la necesidad de identificar umbrales del perímetro de la cintura específicos para cada grupo étnico (en los europeos y descendientes 94 cm en el varón y 80 cm en la mujer). En la tabla 1, modificada de Grundy, se muestran las distintas formas de definir al SM. A pesar de que el SM ha recibido críticas recientes nosotros entendemos que, hasta tanto se determine si la obesidad es una condición imprescindible para el diagnóstico del SM y/o se disponga de mediciones que permitan definir con certeza la IR de un paciente individual, los criterios diagnósticos del ATPIII son adecuados para identificar paciente de alto riesgo cardiovascular en la práctica diaria en el consultorio. (5)

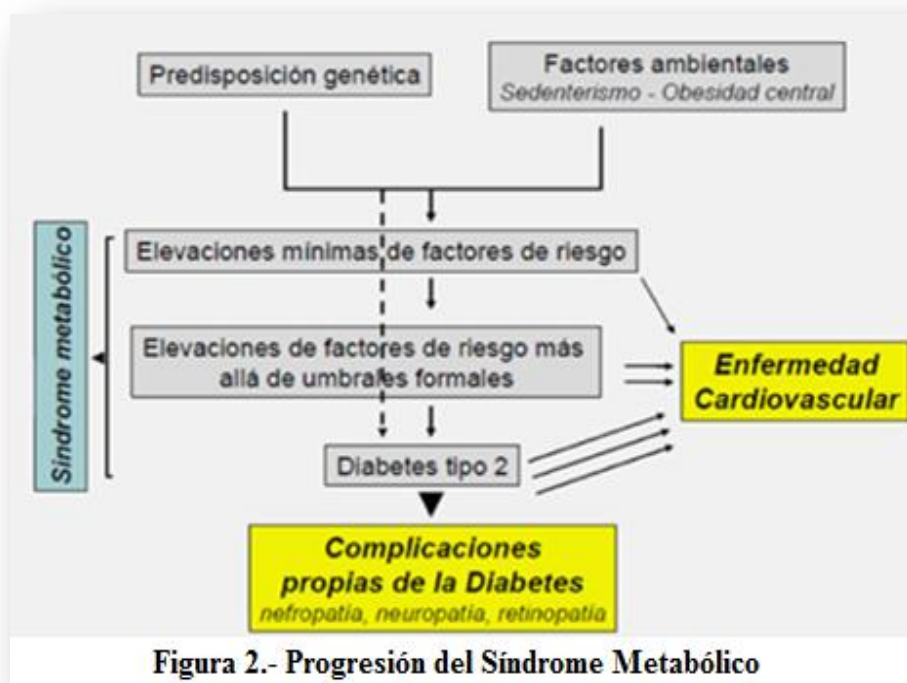
**Cuadro 1.- Criterios utilizados para el diagnóstico del síndrome metabólico**

Medición clínica	OMS	EGIR	ATPIII 3 de los siguientes	AHA/NHLBI 3 de los siguientes	IDF
Insulino resistencia	GAA, TGA, DM tipo 2 o disminución de la sensibilidad a la insulina más dos de los siguientes	Insulina plasmática > percentilo 75 más dos de los siguientes	no	no	no
Obesidad	IMC > 30 y/o relación cintura cadera > 0,9 en varones o > 0,85 en mujeres	Cintura ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres	Cintura ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres	Cintura ≥ 102 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres	Cintura ≥ del umbral definido para cada grupo étnico más dos de los siguientes
Dislipemia	TG ≥ 150 mg/dl y/o HDL < 35 mg/dl en varones o < 39 mg/dl en mujeres	TG ≥ 150 mg/dl y/o HDL < 35 mg/dl en varones o < 39 mg/dl en mujeres	TG ≥ 150 mg/dl	TG ≥ 150 mg/dl*	TG ≥ 150 mg/dl*
			o HDL < 40 mg/dl en varones o < 50 mg/dl en mujeres	o HDL* < 40 mg/dl en varones o < 50 mg/dl en mujeres	o HDL* < 40 mg/dl en varones o < 50 mg/dl en mujeres
Presión arterial	≥ 140/90 mm Hg	≥ 140/90 mm Hg	≥ 130/85 mm Hg	≥ 130/85 mm Hg*	≥ 130/85 mm Hg*
Glucemia		GAA, TGA o DM tipo 2	Glucemia en ayunas > 110 mg/dl	Glucemia* en ayunas > 100 mg/dl	Glucemia* en ayunas > 100 mg/dl

\* o en tratamiento con fármacos

### 5.1.5. Epidemiología

La prevalencia del SM varía en dependencia de la definición empleada para determinarla, así como de la edad, el sexo, el origen étnico y el estilo de vida. Cuando se emplean criterios parecidos a los de la OMS, la prevalencia del SM varía del 1.6 al 15 % en dependencia de la población estudiada y del intervalo de edad, (ver figura 2). En la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas fue evaluada la prevalencia del SM, de acuerdo a la definición del NCEP; en dicha encuesta se incluyeron 2,158 casos, distribuidos en forma aleatoria entre la población de individuos de menos de 40 años que vivían en poblaciones de más de 2500 habitantes; la prevalencia ajustada por edad fue de 26.6 %. Al aplicar estos datos a la distribución de la población encontrada en el censo del año 2000, más de 14.3 millones de adultos en México podrían estar afectados. La prevalencia aumenta con la edad. La encuesta nacional de salud del año 2000 demostró una prevalencia de obesidad del 24%, en población mexicana mayor a 20 años; la prevalencia de diabetes fue de 11% y la de HTA fue del 30%. El estudio de diabetes en la Ciudad de México encontró que el 16% de mujeres y 14.2% de hombres desarrollan el SM en 6 años de seguimiento, y que de estos, 46% de las mujeres y 44% de los hombres desarrollaron diabetes. El grupo de Aguilar-Salinas en el 2003 reportó la prevalencia del SM, de acuerdo a la aplicación de los criterios de la OMS y la ATP III, en un grupo de pacientes de entre 20 y 69 años, con un promedio de 40 años. La prevalencia ajustada por edad fue de 13.61% con la definición de la OMS y de 26.6% con los criterios de la ATP. Con esto se demuestra que desde un 6.7 a 14.3 millones de mexicanos están afectados. Más aun la prevalencia aumenta con la edad, con variaciones de 5 a 10% con la definición de la OMS y del 10 al 50% con la definición de la ATP III. La prevalencia de SM varía según el sexo, edad, etnia, y los criterios utilizados para definirlo, sin embargo aun con estas diferencias las prevalencias actuales son altas en todo el mundo; En México la prevalencia en adultos de 20 años de edad y más fluctúa actualmente de 36.8, 41.6 y 49.8% de acuerdo a the US National Cholesterol Education Programme Adult Treatment Panel (NCEP-ATP III), la American Heart Association/ National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI) y la International Diabetes Federation (IDF). Este incremento es paralelo al de la prevalencia de obesidad. Además de que continúa en aumento al parecer debido al aumento paralelo de la prevalencia de la obesidad. En este estudio se evaluó a los factores de riesgo asociados a SM de población adulta mexicana mayor de 20 años de edad, a partir de los resultados obtenidos de una sub-muestra con representatividad nacional de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006.



#### 5.1.6. Fisiopatología

Se ha sugerido para su desarrollo que el SM tiene una base genética, la cual se ve favorecida por factores ambientales. Dichos factores ejercen una influencia sobre el tejido adiposo y la inmunidad innata. El desarrollo fetal puede estar influido por un ambiente pobre en calorías por baja ingesta de la madre, que ocasiona un producto con bajo peso al nacer, el cual desarrolla la habilidad para ahorrar nutrientes y se adapta a la baja carga energética. Dicha adaptación genética ya no cambia y permanece el resto de su vida. Posteriormente, si ese sujeto se enfrenta a un exceso de alimento y/o vida sedentaria, se convertirá en un gran ahorrador de energía, merced a su adaptación adquirida "in útero" y acumulará grandes cantidades de energía, debido a lo que se ha llamado el "gen ahorrador", que le permitirá desarrollar obesidad de predominio abdominal y lo llevará a presentar varios de los elementos que integran el SM (HTA, cardiopatía coronaria, trombogénesis y DM2). Lo anteriormente referido también puede acontecer en un sujeto sin bajo peso al nacer, que al exponerse a grandes cantidades de nutrientes, en relación con su gasto energético, no puede manejar dicho combustible y almacena gran parte de ello. La respuesta del páncreas, ante dicha mayor carga de nutrientes, desarrolla hiperinsulinemia y posteriormente se hará presente la resistencia tisular a la insulina. Como se mencionó, las dietas ricas en calorías y bajo consumo energético asociadas al sedentarismo producen aumento del tejido adiposo, principalmente visceral abdominal, que representa un alto riesgo de SM y de enfermedad cardiovascular. La obesidad juega un papel preponderante en el desarrollo de RI. El tejido adiposo visceral es muy activo en la liberación de ácidos grasos (AG), factor de necrosis tumoral (FNT- $\alpha$ ), leptina, adiponectina, PAI-1, y citocinas principalmente; todos ellos causan resistencia a la acción periférica de la insulina e hiperinsulinemia compensatoria. El aumento

en la liberación de los AGL circulantes, al entrar a la circulación portal, representan un sustrato para la producción hepática de triglicéridos y contribuyen a la dislipidemia característica del SM: hipertrigliceridemia, disminución del colesterol HDL y aumento del colesterol LDL; alteraciones que contribuyen de manera significativa al incremento del riesgo de enfermedad cardiovascular en individuos con IR. La obesidad, la IR y la dislipidemia son los responsables de la que actualmente se considera epidemia mundial de DM2. La concentración plasmática de la leptina y de la adiponectina se ha relacionado con los principales componentes del SM. Ambas son producidas por el adipocito; la leptina regula el balance energético, el peso corporal y estimula el sistema nervioso simpático con producción de mayor saciedad. La adiponectina tiene una relación inversa con el tejido adiposo visceral, tiene múltiples funciones: antiinflamatoria, antidiabetogénica y antiateroesclerótica. Se ha mencionado la existencia de hiperactividad del eje hipotálamo hipófisis suprarrenal en el SM, que determina la elevación de los niveles de cortisol y de otros esteroides suprarrenales con actividad androgénica (dehidroepiandrosterona); por otro lado, la insulina incrementa la producción ovárica de andrógenos al disminuir la síntesis de globulina transportadora de esteroides sexuales, que incrementa aún más los niveles de andrógenos circulantes, que unidos a los de origen ovárico son transformados a estrógenos (estradiol), por acción de la aromataza existente en la grasa visceral (en la mujer). Dicha producción estrogénica no es cíclica, es continua e inhibe la producción de gonadotropinas y determina la anovulación crónica y la enfermedad poliquística del ovario (7).

## *5.2. Insulinorresistencia*

### *5.2.1. Definición*

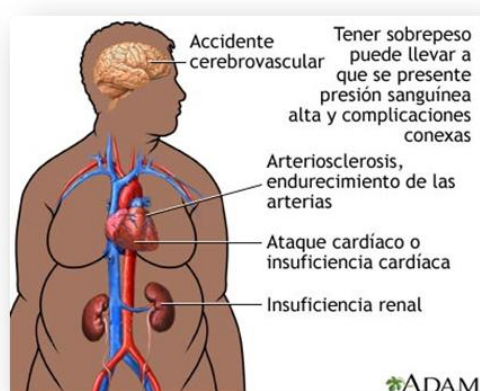
La resistencia a la insulina se define como una condición caracterizada por una menor actividad biológica de la hormona que se expresa en sus diferentes acciones metabólicas, siendo la más evidente en el metabolismo de la glucosa. Esto se manifiesta en órganos y tejidos como el hígado, tejido adiposo y muscular y también en el endotelio. Un cierto grado de resistencia a la insulina es fisiológico durante la pubertad, en el embarazo y con el envejecimiento, siendo normalmente compensada por una mayor secreción de insulina por las células beta del páncreas. Otra definición de IR, es la pérdida de la respuesta fisiológica de los tejidos periféricos a la acción de la insulina, produciendo alteraciones metabólicas y hemodinámicas conocidas como SM, que predisponen al desarrollo de aterosclerosis y por tanto de enfermedad cardiovascular, la principal causa de mortalidad en los países desarrollados (8).



### 5.2.2 Epidemiología

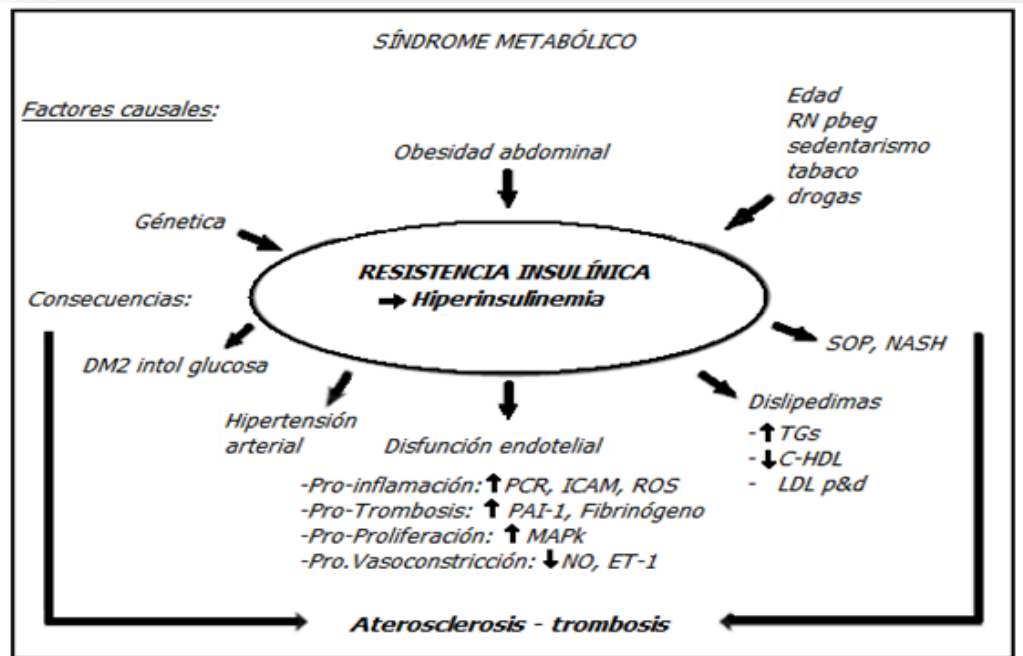
De acuerdo con la tercera Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de los Estados Unidos, la población México-Americana presentó la prevalencia más alta (31.9%) de SM. En la gran mayoría de los pacientes que tienen resistencia a la insulina, hay defectos a nivel post-receptor derivados de alteraciones genéticas, que son múltiples (sustrato del receptor de insulina-1 -IRS- 1, proteínasas, glicógeno sintasa, etc.), cuya expresión clínica es favorecida por la concurrencia de factores ambientales, entre los que destaca la obesidad tóraco-abdominal. El sedentarismo, tabaquismo, algunos medicamentos (diuréticos, beta-bloqueadores, progestágenos, corticoides) también facilitan la IR. La obesidad es el principal factor patogénico y más del 80% de los obesos son IR.

### 5.2.3 Fisiopatología



La expansión de los adipocitos viscerales modifica su actividad endocrino-metabólica con aumento de secreción y niveles plasmáticos de ácidos grasos libres (AGL), del TNF- $\alpha$  y otras citocinas pro-inflamatorias y disminución de la adiponectina (ver figura 3) (9).

El estado protrombótico y proinflamatorio contribuye también a desarrollar eventos aterotrombóticos y ateroscleróticos. La microalbuminuria, o la presencia de proteínas en orina, es un fuerte indicador de mortalidad cardiovascular según la OMS. En un estudio prospectivo de individuos sin diabetes, la presencia de microalbuminuria predice el desarrollo de DM2. Ésta ha sido relacionada con un incremento en la salida transcapilar de albúmina y con el estrés oxidativo. Cabe destacar que la obesidad es capaz de incrementar la PA pudiendo hacerlo a través de la leptina, ya que esta aumenta la actividad simpática y puede inducir aumento de las catecolaminas, o por activación del sistema *renina angiotensina aldosterona*. Los niveles de angiotensina II son altos en los obesos y el aumento de la presión intraglomerular que se ha observado en estos individuos es sugestivo de esta activación del sistema renina angiotensina aldosterona.



**Figura 3.- Patogenia y consecuencias del SM**

(RNpbeg = Recien nacido con peso bajo para su edad gestacional; SOP = Síndrome de Ovario Poliquístico; NASH = Esteatohepatitis no alcohólica; PCR = Proteína C reactiva; ICAM = Moléculas de adhesión intracelular; ROS = Especies reactivas de Oxígeno; PAI-1 = Inhibidor del activador de plasminógeno - 1; MAPc = Cinasas de proteínas mitógenicas activadas; NO = Oxído nítrico; ET-1 = Endotelina 1; TGs = Triglicéridos; C-HDL = Colesterol de HDL; LDL p&d = LDL pequeñas y densas.

En cuanto al rol de la IR y la consecuente hiperinsulinemia en la patogenia de la aterosclerosis y de la enfermedad coronaria debe mencionarse que:

- La insulina puede incrementar la PA por estímulo simpático-adrenal, modulación del transporte de cationes e hipertrofia de los miocitos vasculares, debido al incremento de los efectos del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y de estímulo directo de las mencionadas células musculares.
- La hiperinsulinemia también puede producir alteraciones lipídicas perjudiciales, como descenso del colesterol HDL y aumento de triglicéridos, provocadas por aumento de catecolaminas e incremento de la síntesis de VLDL.
- La hiperinsulinemia y la hiperglucemia son capaces de promover la secreción del PAI-1 situación que aumenta el riesgo de trombosis al producir un estado protrombótico.

En los diabéticos, además, pueden aumentar el factor Von Willebrand y el fibrinógeno favoreciendo la trombosis. Sin embargo, debe destacarse que no todos los pacientes con SM presentan IR e hiperinsulinemia. Debemos mencionar que el principal factor que contribuye al desarrollo de IR es el exceso de AGL circulantes, el origen del problema es múltiple:

- El incremento del TNF  $\alpha$  en la obesidad distorsiona la unión de insulina y sus receptores, por disminución de la actividad tirosincinasa, pudiendo alterar la expresión genética del GLUT- 4
- El aumento de AGL que incrementan el tejido adiposo, también trastorna el sistema de señales de insulina y su transporte a la vez que aumenta la producción de insulina en respuesta a la glucosa, tanto a corto, como a largo plazo, contribuyendo al estado de hiperinsulinemia.
- Los AGL compiten con la glucosa como sustrato energético del músculo, por el denominado mecanismo Randle, modificando la acción de las proteíncinasas, y disminuyendo la captación de la glucosa dependiente de la insulina, con la hiperglucemia subsiguiente. Randle cols., 1963 postularon que el aumento de la oxidación de los AGL en músculo restringía tanto la captación como la utilización de glucosa por este tejido (competencia de sustratos), secundaria a una inhibición de enzimas clave involucradas en la cascada de la vía oxidativa y no oxidativa de la glucosa, es decir, se observaba una incapacidad para oxidar la glucosa como energía y almacenarla como glucógeno. Este ciclo ha sido denominado "ciclo de la glucosa-ácido graso" (ver figura 4) (10).

Dada la importancia de la relación entre IR y el SM, es necesario dilucidar los mecanismos fisiopatológicos. La teoría metabólica sostiene que la hiperinsulinemia compensatoria resultante de la resistencia a la insulina, es el factor responsable de la HTA, DM2, dislipidemia obesidad, disfunción endotelial y aterosclerosis, a través de diversos mecanismos. La IR como ya se ha mencionado, depende de alteraciones de su receptor y defectos intracelulares, los cuales podemos dividir en tres grupos: 1) las relaciones con la actividad del receptor (tirocíncinasa y proteíncinasas); 2) las involucradas en la cascada de la fosforilación y desfosforilación intracelular de la serina, conocidas como proteíncinasas Activadora por Mitógenos (MAPcinasa); 3) las responsables del efecto biológico final de la insulina. La resistencia a la insulina no es una enfermedad, es una anomalía fisiológica que, con otras alteraciones, puede llevar al desarrollo de varios síndromes.

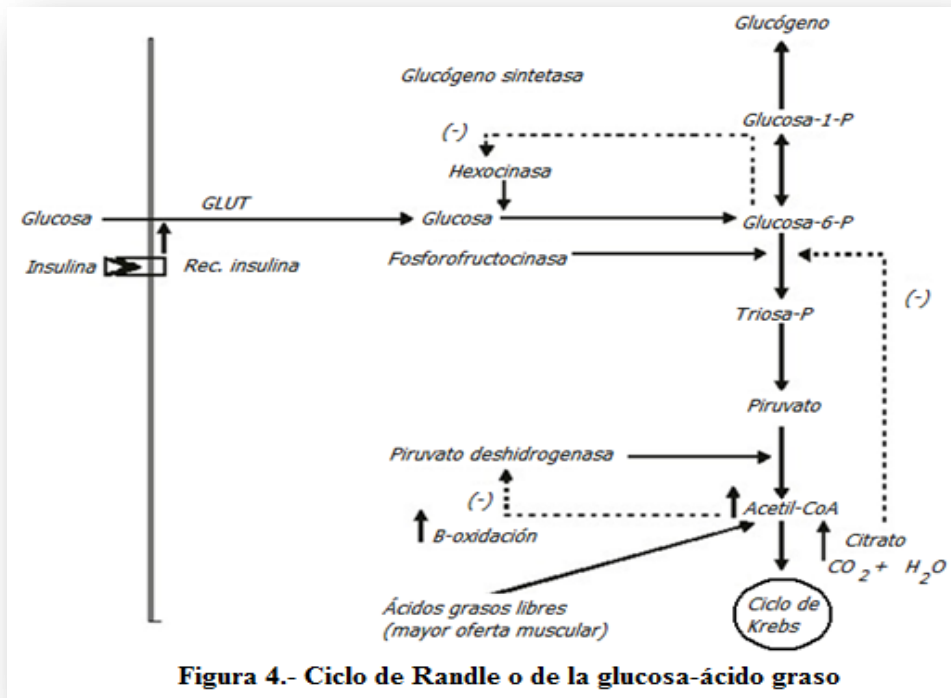


Figura 4.- Ciclo de Randle o de la glucosa-ácido graso

La estrecha relación del SM fue demostrada en el estudio Finnish, en el cual se comprobó que los pacientes sin diabetes tienen el mismo riesgo de presentar un infarto agudo al miocardio que aquellos pacientes con diabetes; por ello el ATP III considera a la DM2 como un equivalente a enfermedad coronaria.

➤ Riesgo cardiovascular

La medición de los niveles de IR predice el incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular y que este riesgo está presente en una tercera parte de la aparentemente sana que tiene defectos en el metabolismo y disposición de la glucosa. Los factores de riesgo cardiovascular en pacientes con resistencia a la insulina, no solo se relacionan con la presencia de alteraciones en el perfil lipídico, también se relaciona con procesos inflamatorios, oxidativos y de hipercoagulabilidad que producen disfunción endotelial y contribuyen al desarrollo de placas con alto riesgo de ruptura. (11)

#### 5.2.4. Métodos de detección de resistencia a la insulina

Para medir la IR se puede usar tanto el HOMA (Homeostatic Model Assessment), calculado de la siguiente forma: valor de la insulina en ayuno en UI/dL multiplicado por el valor de la glucemia en ayuno todo ello dividido por 22.5 y expresado en mmol/L) como el QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) la fórmula para calcularlo es:  $1/\log \text{ insulina en } \mu\text{U/mL} \times \log \text{ glucosa en mg/dL}$ . La IR no es fácil de medir en la práctica médica. La OMS aconseja la técnica de Clamp, (considerada el estándar de oro) y otras técnicas serían:

- Modelo mínimo aproximado del metabolismo de la glucosa
- Test de supresión de la Insulina

- Test de tolerancia a la insulina modificado
- CIGMA

Sin embargo, son suficientes dos mediciones de glicemia basal  $\geq 110$  mg/dL para establecer glicemia basal alterada que es un criterio diagnóstico de SM según el NCEP. Este es un marcador indirecto, que junto con la clínica, nos acerca al diagnóstico de RI. (12)

### 5.3 Riesgo cardiovascular



#### 5.3.1 Generalidades

Existen diversos tipos de enfermedades cardiovasculares: hipertensión arterial, enfermedad coronaria, enfermedad valvular cardíaca, accidente cerebro vascular (trombosis o derrame cerebral) y fiebre reumática o enfermedad cardíaca reumática. Según la OMS, las enfermedades cardiovasculares causan más de 17 millones de muertes en el mundo cada año y representan la mitad de todas las muertes en los Estados Unidos y otros países desarrollados. Las enfermedades cardiovasculares también son una de las principales causas de muerte en muchos países en vías de desarrollo. En conjunto, son la primera causa de muerte en los adultos. De acuerdo a datos recientes (2006) más de 6 millones de personas en el mundo tendrán un infarto al miocardio y su prevalencia aumentara a 33%. Datos epidemiológicos de México, establecen a la cardiopatía isquémica (CI) como primera causa de mortalidad en mayores de 60 años y la segunda causa en la población general, la CI fue responsable de 50,000 muertes en 2003 y contribuyo aproximadamente al 10 % de todas las causas de mortalidad; de ahí la relevancia de identificar y tratar oportunamente los factores de riesgo cardiovascular, para disminuir la incidencia de CI. (13).

#### 5.3.2. Epidemiología

El aumento del riesgo cardiovascular asociado al SM puede deberse a la suma de sus partes ya que cada uno de sus componentes constituye un factor de riesgo independiente:

- ✓ Dislipidemia
- ✓ Obesidad
- ✓ Hipertensión
- ✓ IR

La presencia de algunos factores de riesgo cardiovascular, tabaquismo, el SM en mujeres, la hipercolesterolemia en la población infantil y los cambios dietéticos, podrían provocar un

incremento de la mortalidad cardiovascular en los próximos años a pesar de las mejoras en el diagnóstico y el tratamiento de los factores de riesgo.

#### 5.3.2.1. Dislipidemia

El perfil aterogénico, con aumento de VLDL, disminución de HDL y presencia de LDL con partículas pequeñas y densas, esto se asocia a un aumento en el riesgo de enfermedad coronaria cardíaca.

Con el aumento del flujo de AG al hígado se produce:

- Aumento de VLDL ricas en TG.
- Aumento de la producción de Apo B.
- El otro gran disturbio en el SM es la disminución del colesterol LDL. Esta reducción es una consecuencia de cambios en la composición y metabolismo de las HDL. En presencia de hipertrigliceridemia hay un decremento en el contenido de colesterol esterificado del núcleo de la lipoproteína, haciendo de estas partículas pequeñas y densas. Estos cambios en la composición de las lipoproteínas resultan en un incremento en el clearance de las HDL por la circulación.
- Las LDL se modifican en forma similar. Éstas, aunque pueden permanecer en igual número, presentan aumento en la proporción de partículas pequeñas, densas, aterogénicas y un incremento en la concentración de Apo B (un marcador de la concentración de lipoproteínas aterogénicas). Esto se asocia a un aumento en el riesgo de enfermedad coronaria cardíaca. Las LDL densas y pequeñas podrían ser más aterogénicas que las LDL comunes porque:
  - ✓ Son más tóxicas para el endotelio
  - ✓ Son más capaces de transitar a través de la membrana basal del endotelio.
  - ✓ Se adhieren bien a los glicosaminoglicanos
  - ✓ Tienen un aumento en la susceptibilidad a la oxidación.

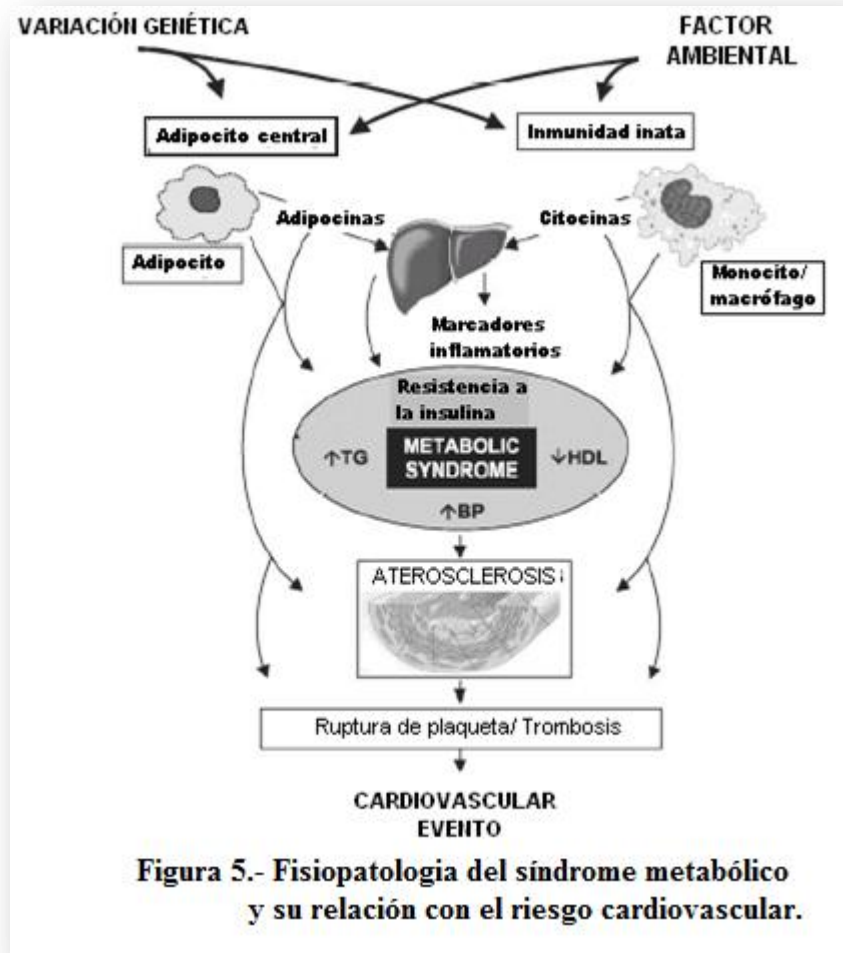
#### 5.3.2.2. Obesidad

Es un factor de riesgo conocido para aterosclerosis, pero no todas las personas obesas presentan el mismo riesgo cardiovascular. Los estudios epidemiológicos de las últimas dos décadas han demostrado que el verdadero factor pronóstico independiente de riesgo para la salud no es tanto el exceso de peso, sino la distribución de grasa corporal y su localización intra-abdominal en exceso.

#### 5.3.2.3. Hipertensión

Ha sido incluida como criterio diagnóstico en todas las definiciones de SM, desde que a este último se ha relacionado fuertemente con riesgo cardiovascular.

La combinación de estos elementos fundamentales del SM puede terminar en aterosclerosis, complicaciones de placa, y finalmente, eventos cardiovasculares (ver figura 5).



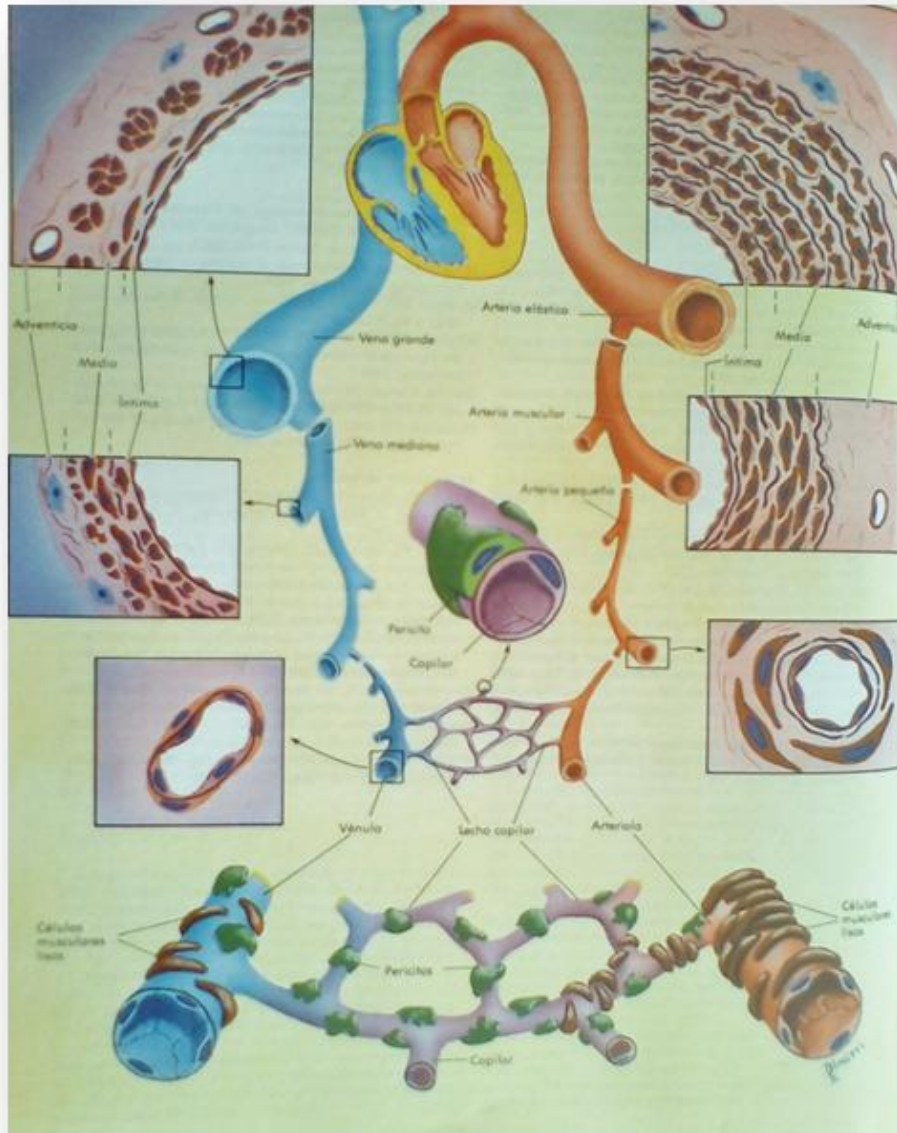
Para que un paciente sea considerado hipertenso según los criterios de la OMS, los valores de su presión arterial deben ser  $\geq 140/90$  mmHg y según los criterios de la NCEP  $\geq 130/85$  mmHg. Si un paciente presenta una presión arterial menor a esta última pero con tratamiento antihipertensivo también será considerado hipertenso. En la patogenia de la HTA se conoce que intervienen múltiples factores: genéticos, ambientales, endócrinos, metabólicos, etc. Se destacan aquellos relacionados a un estado de IR/hiperinsulinismo:

- Activación del sistema Renina-Angiotensina
- Efecto estimulador del sistema nervioso simpático
- Aumento del gasto cardíaco
- Incremento en la reabsorción de sodio y agua a nivel renal (14)

## 5.4. Disfunción endotelial

### 5.4.1. Generalidades

El sistema vascular sanguíneo está compuesto por arterias, capilares y venas. De acuerdo con la definición, las arterias son los vasos sanguíneos que distribuyen la sangre del corazón y las venas son los vasos que la devuelven a ese órgano. Las arterias y las venas están conectadas entre sí a través de los capilares sanguíneos, (ver cuadro 2)





**Cuadro 2.- Características de las venas y arterias**

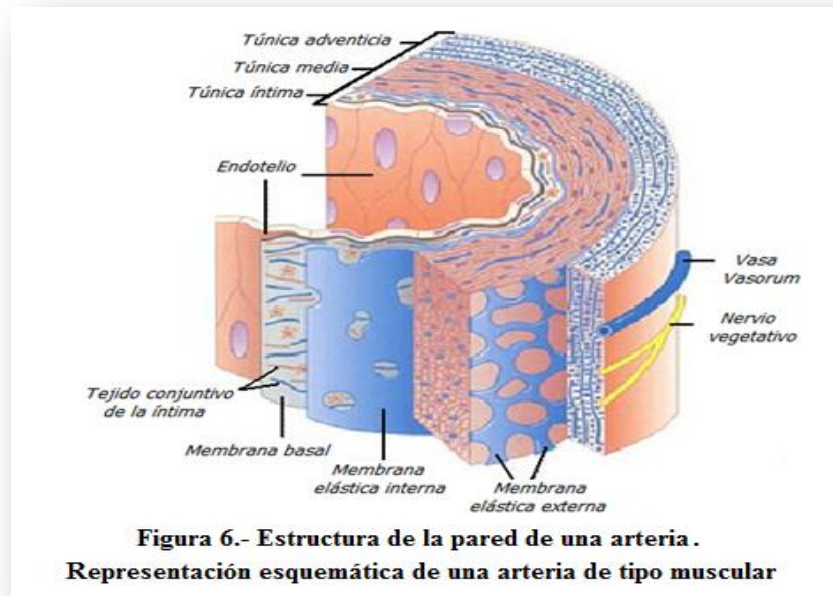
<b>Arterias</b>				
Vaso	Diámetro	Capa interna (túnica íntima)	Capa intermedia (túnica media)	Capa externa (túnica adventicia)
Arteria grande (arteria elástica)	>1 cm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso	Músculo liso Membranas (láminas) elásticas	Tejido conjuntivo Fibras elásticas Más delgada que la túnica media
Arteria mediana (arteria muscular)	2-10 mm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso Membrana elástica interna prominente	Músculo liso Fibras colágenas Relativa escasez de tejido elástico	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas Más delgada que la túnica media
Arteria pequeña	0,1-2 mm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso Membrana elástica interna	Músculo liso (8-10 capas celulares) Fibras colágenas	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas Más delgada que la túnica media
Arteriola	10-100 µm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso	Músculo liso (1-2 capas celulares)	Fina vaina de tejido conjuntivo mal definida
Capilar	4-10 µm	Endotelio	No hay	No hay
<b>Venas</b>				
Vaso	Diámetro	Capa interna (túnica íntima)	Capa intermedia (túnica media)	Capa externa (túnica adventicia)
Vénula poscapilar	10-50 µm	Endotelio Pericitos	No hay	No hay
Vénula muscular	50-100 µm	Endotelio Pericitos	Músculo liso (1-2 capas celulares)	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas Más gruesa que la túnica media
Vena pequeña	0,1-1 mm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso (2-3 capas)	Músculo liso (2-3 capas continuas con la túnica íntima)	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas Más gruesa que la túnica media
Vena mediana	1-10 mm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso Membrana elástica interna en algunos casos	Músculo liso Fibras colágenas	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas Más gruesa que la túnica media
Vena grande	>1 cm	Endotelio Tejido conjuntivo Músculo liso	Músculo liso (2-15 capas) Músculo cardíaco cerca del corazón Fibras colágenas	Tejido conjuntivo Algunas fibras elásticas, músculo liso longitudinal Mucho más gruesa que la túnica media

Los componentes estructurales más importantes de los vasos sanguíneos son:

- Una capa interna formada por epitelio simple plano delgado, el endotelio.
- Fibras de colágena
- Fibras elásticas
- Proteoglucanos
- Células musculares lisas

En principio la pared de una arteria está compuesta por tres capas concéntricas.

- ✓ La túnica íntima, la más interna, cuyos componentes principales son el endotelio lindante con la luz, una capa delgada de tejido conectivo subendotelial y la membrana elástica interna.
- ✓ La túnica media, situada en el centro de la pared, que consiste sobre todo en células musculares lisas de organización predominantemente circular y fibras del tejido conjuntivo.
- ✓ La túnica adventicia, (túnica externa), que está compuesta de fibrillas de colágena de curso longitudinal, muchas fibras elásticas y fibroblastos; estas continúan, sin límites nítidos con el tejido conjuntivo laxo continuo (ver figura 6) (15).

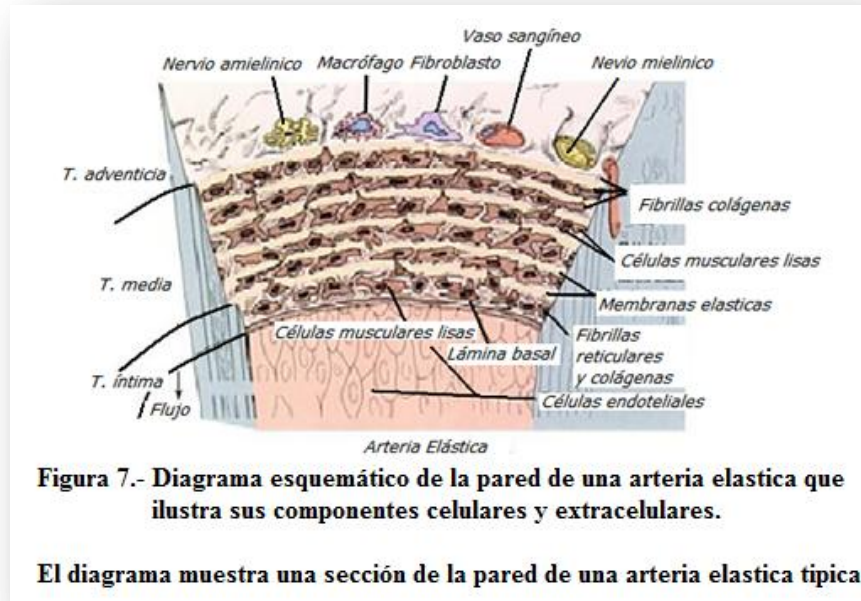


#### 5.4.2. Arterias

De acuerdo con las diferencias funcionales, el calibre y las características de la túnica media las arterias pueden clasificarse en tres grandes grupos (ver figura 7).

- Arterias elásticas (arterias de conducción), de gran calibre y cercanas al corazón.
- Arterias musculares (arterias de distribución).

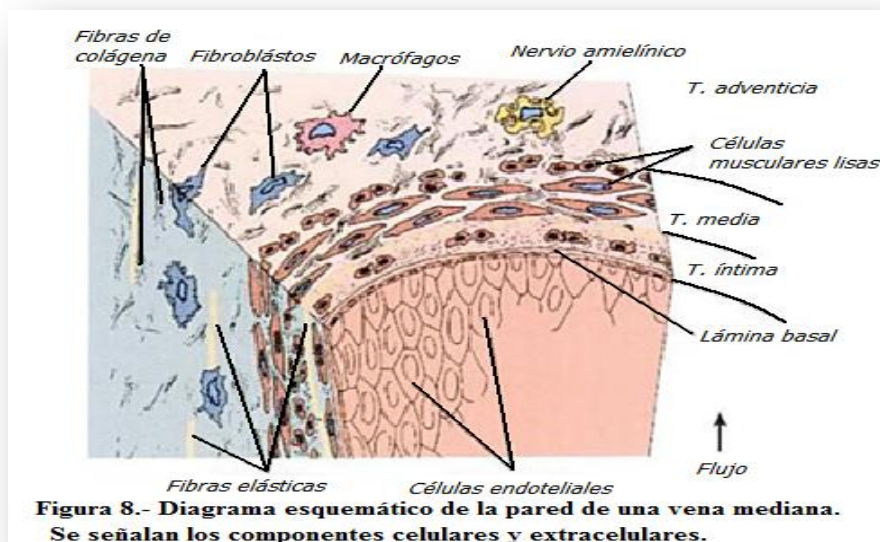
➤ Arteriolas.



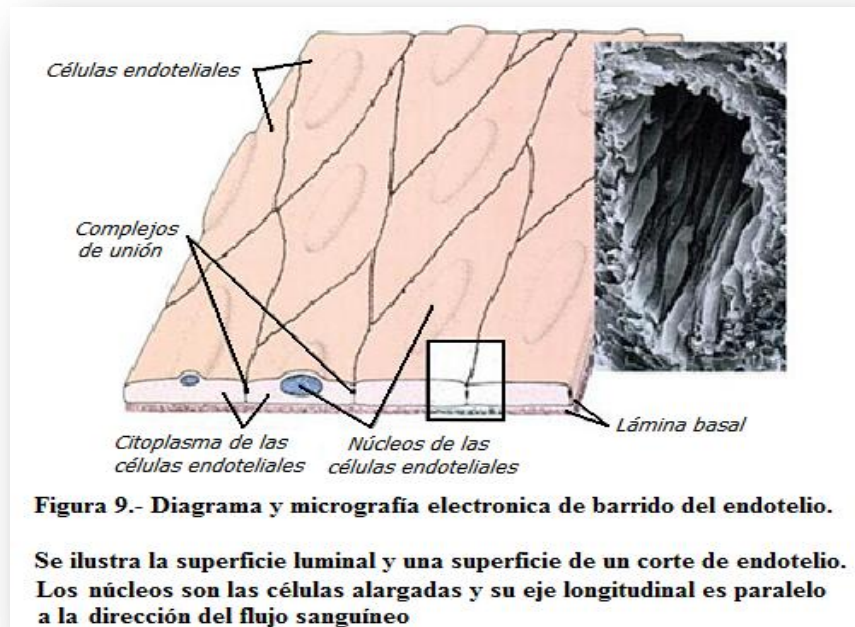
5.4.3. Venas

Las túnicas de las venas no están, tan bien definidas como las túnicas de las arterias. Tradicionalmente se clasifican a las venas en tres tipos, según el tamaño (Fig. 8):

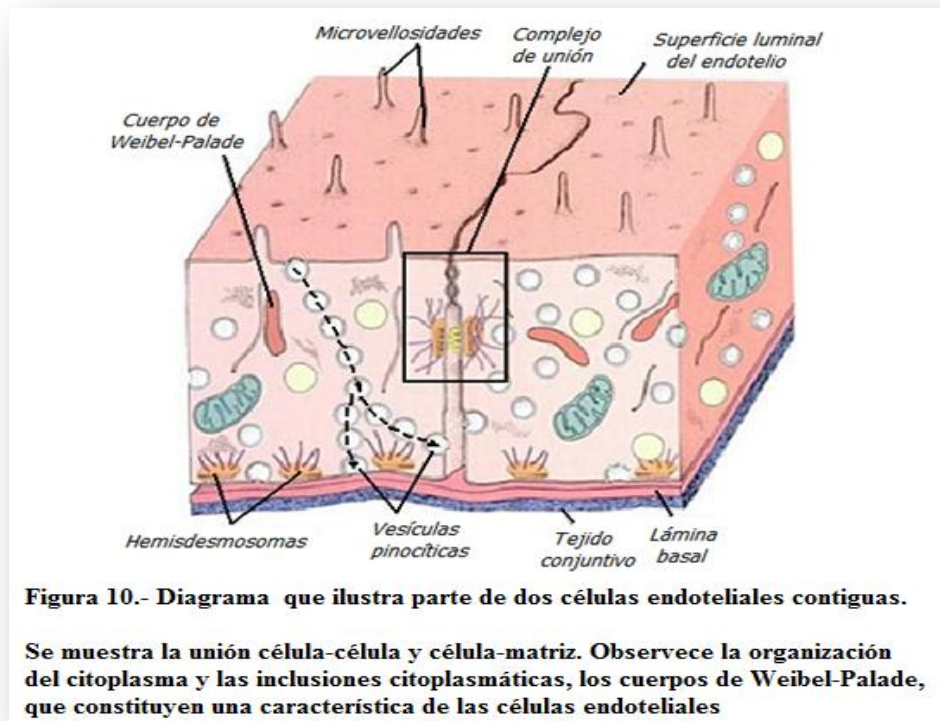
- ❖ Venas pequeñas o vénulas, subclasificadas en vénulas poscapilares y musculares.
- ❖ Venas medianas.
- ❖ Venas grandes.



#### 5.4.4. Endotelio



El endotelio es un tipo de epitelio plano monoestratificado formado por células endoteliales, que recubre el interior de todos los vasos sanguíneos, incluido el corazón. El endotelio es un tejido que ha dejado de considerarse una simple barrera que contiene al plasma y a las células de la sangre, que permite el intercambio de nutrientes y desechos, y tiene una longitud de 50  $\mu\text{m}$  y un ancho promedio de 10  $\mu\text{m}$ . Sus células consumen gran cantidad de energía debido a su activo metabolismo (ver figura 9). La superficie de las células endoteliales está recubierta de receptores que permiten al endotelio realizar múltiples funciones. Por eso la disfunción endotelial es la responsable de numerosas enfermedades como la aterosclerosis, HTA, sepsis, trombosis, vasculitis, hemorragias, etc. Una característica fundamental de las células endoteliales es la gran cantidad de vesículas de transcitosis de paredes lisas. En el citoplasma de muchas células endoteliales de arterias y venas hay cuerpos de Weibel-Palade (gránulos alargados con estructuras internas tubulares), que contienen el factor de Von Willebrand. Este factor es una glucoproteína plasmática multimérica heterogénea que se sintetiza en todos los endotelios y en los megacariocitos pero, por lo visto, no siempre se almacenan en gránulos. El factor de Von Willebrand transporta el factor VIII en el plasma y cumple una función importante en la agregación de las plaquetas y el sellado de un sitio de lesión (ver figura 10). En el endotelio es donde se desarrolla la mayoría de los eventos que dan origen a las complicaciones vasculares de la obesidad y a la IR, la agregabilidad plaquetaria, adhesividad, el depósito de lipoproteínas, la hiperreactividad, el crecimiento, y la proliferación de las células endoteliales, son fenómenos directamente proporcionales a la sobreproducción de sustancias en un adipocito hiperplasiado y/o hipertrofiado. (16)



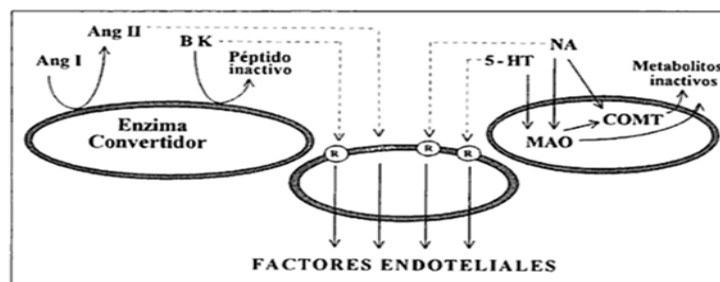
#### 5.4.4.1. Funciones del endotelio

Es importante destacar el papel del endotelio como secretor de óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador que en disfunciones endoteliales puede disminuir, lo que significa un factor de riesgo para el infarto al miocardio (IM). Durante mucho tiempo se pensó que el endotelio vascular únicamente servía para separar la sangre del resto de las estructuras orgánicas, pero hoy en día se sabe que no es un tejido pasivo y su importancia radica en el gran número de funciones que regula. Entre ellas figuran las siguientes:

- Transporte capilar selectivo, permitiendo o facilitando el paso de determinadas sustancias e impidiendo el paso de otras sustancias contenidas en la sangre. El paso de dichas sustancias se realiza usualmente en función de su carga y estructura química. También hay moléculas que se unen a receptores específicos del endotelio y son transportadas al interior de la célula endotelial (endocitosis mediada por receptor) o son transportadas a otros tejidos (transcitosis mediada por receptor).
- Regulación de los lípidos plasmáticos. Las células endoteliales absorben las lipoproteínas circulantes, la lipasa hepática y las lipoproteínas transportadoras de triglicéridos, esterios de colesterol y AGL. Tanto las VLDL, como LDL, se unen a receptores de la membrana endotelial y son metabolizadas allí. En condiciones fisiológicas el endotelio controla el exceso de colesterol en plasma, pero en condiciones patológicas el exceso de colesterol se acumula y forma la placa aterosclerótica. También existe en el endotelio lugares de unión específicos para la

albúmina que se une a AGL, produciéndose un transporte selectivo de estos a otros tejidos.

- Mantenimiento de una superficie capilar no trombogénica. Varios factores participan en la acción antitrombogénica del endotelio. Por un lado, la superficie endotelial tiene una gran carga neta negativa y glicosaminoglicanos sulfatados como heparina. Por otro lado, en el endotelio se sintetizan sustancias antitrombogénicas como las prostaciclina, un activador del plasminógeno y antitrombina III. Por último las células endoteliales poseen actividad degradadora de adenosín difosfato, y además captan y eliminan la trombina circulante.
- Modulación del fenotipo del músculo liso vascular (MLV). El endotelio realiza una acción muy específica sobre el MLV pudiendo modificar sus características estructurales además de ejercer un control local de su funcionamiento. La alteración del endotelio vascular produce la migración de las células musculares lisas en posición longitudinal que constituye la denominada neointima. Estas células tienen gran contenido en mitocondrias y ribosomas libres, y menor contenido en actina y miosina, ya que pasan de tener un fenotipo "contráctil" a tener un fenotipo "secretor".
- Por último, el endotelio regula la reactividad vascular y controla el tono del MLV mediante los siguientes mecanismos:
  - a) Actúa como barrera selectiva entre el MLV y distintas hormonas así como sustancias vasoactivas presentes en la sangre circulante.
  - b) Sus células son metabólicamente activas y se muestran capaces de degradar sustancias vasoactivas como noradrenalina, serotonina o 5-hidroxitriptamina y cininas. La membrana endotelial contiene enzima convertidora que transforma la angiotensina I en angiotensina II e inactiva a la bradisinina.
  - c) El endotelio también es capaz de sintetizar factores relajantes y contracturantes responsables del control local del tono vasomotor (ver figura 11).



**Figura 11.- Actividad metabólica de las células del endotelio.**

Sustancias como angiotensina I (Ang I) y bradikinina (BK) se transforman cuando sobre ellas actúa el enzima convertidor localizado en la membrana de la célula endotelial, en un compuesto activo angiotensina II (Ang II) y en un péptido inactivo respectivamente. Sustancias como noradrenalina (NA) y 5-hidroxitriptamina (5-HT) son captadas de forma activa por la célula endotelial y allí se degradan enzimáticamente por acción de la monoaminoxidasa (MAO) y la catecol-O-metiltransferasa (COMT). Algunas de estas sustancias que pueden sufrir transformaciones metabólicas en el endotelio son además capaces de actuar en receptores (R) de las células endoteliales liberando distintos factores relajantes que pueden actuar en el músculo liso vascular. Por su parte, la Ang II formada, puede estimular la expresión de factores contracturantes en las células endoteliales.

Producción de factores anticoagulantes y antitrombóticos (prostaciclina, trombosmodulina, activador de plasminógeno, moléculas similares a heparina).

- ✓ Producción de factores protrombóticos (factor de Von Willebrand, factor hístico, inhibidor de los activadores de plasminógeno).
- ✓ Modulación del flujo sanguíneo y de las reacciones vasculares (producción de vasoconstrictores: endotelina-1, ECA (enzima convertidora de angiotensina) y vasodilatadores: NO y prostaciclina).
- ✓ Regulación de la inflamación y la inmunidad (producción de IL-1, IL-6, IL-8, moléculas de adhesión y antígenos de Histocompatibilidad).
- ✓ Regulación de la proliferación celular (producción de factores estimulantes del crecimiento: (PDGF, CSF, FGF) y factores inhibidores del crecimiento: (heparina, TGF- $\beta$  que es el factor de crecimiento transformable  $\beta$ ) Oxidación de LDL. (16,17)

#### 5.4.4.2. Disfunción endotelial

El endotelio vascular cumple importantes funciones, incluyendo la regulación de la permeabilidad capilar, del tono vascular y el flujo sanguíneo. El endotelio cumple un doble papel en el control del tono vascular, segregando, en respuesta a estímulos hemodinámicos y químicos, tanto sustancias vasodilatadoras, como del NO y las prostaciclina, como vasoconstrictoras (endotelina-1 [ET-1] y angiotensina II [AT-II]). Un adecuado equilibrio entre estos factores, vasoconstrictores y vasodilatadores, es esencial para el mantenimiento de la homeostasis vascular. Cuando este equilibrio se rompe, el resultado es un aumento de la predisposición de los vasos a la vasoconstricción, adherencia leucocitaria, activación plaquetaria, mitogénesis, aumento del estado oxidativo, trombosis, activación de la coagulación, inflamación vascular y aterosclerosis (18-21). Los pacientes con SM y riesgo cardiovascular presentan una limitación del aumento del flujo coronario (22-27), que se atribuye a disfunción endotelial de la microcirculación. En humanos la microcirculación coronaria sólo puede investigarse de forma indirecta, midiendo el flujo miocárdico en respuesta a diferentes estímulos vasodilatadores. La llamada reserva vasodilatadora, o reserva coronaria, se expresa como el cociente entre el flujo máximo, obtenido en respuesta a vasodilatadores, y el basal. Entre las técnicas empleadas para realizar estas mediciones se incluyen la tomografía de emisión de positrones (PET) (28-30), el Doppler intracoronario, la medición por termodilución del flujo sanguíneo en el seno coronario (31-33) y, más recientemente, la Resonancia Magnética (34). La disfunción endotelial puede evaluarse asimismo a través de marcadores serológicos, que son componentes celulares que se liberan al torrente sanguíneo cuando se daña o activa la célula endotelial. Entre éstos se encuentran el factor de Von Willebrand (FvW), el fibrinógeno, la fibronectina y la alfa-2-macroglobulina. Otro tipo de marcadores de activación endotelial son las moléculas de adhesión de célula vascular 1 (VCAM-1) e moléculas de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), que median la adhesión leucocitaria al endotelio vascular. Existen múltiples causas que pueden conducir a la aparición de disfunción endotelial en los pacientes con SM, incluyendo factores de riesgo, tales como la diabetes, el tabaco, la hipertensión arterial (HTA), la hipercolesterolemia y otros más recientemente implicados en la aterogénesis, como son la

homocisteína, los radicales libres de O<sub>2</sub>, infecciones, mecanismos inflamatorios y déficit estrogénico (35). Asimismo, diversos estudios han probado que la disfunción endotelial, producida por los factores clásicos de riesgo coronario, afecta no sólo a las arterias coronarias epicárdicas, sino también a la microcirculación y a la circulación periférica. Partiendo de la observación de que entre los paciente con SM hay una elevada proporción de mujeres menopáusicas o posmenopáusicas, se ha propuesto el déficit estrogénico como uno de los posibles elementos importantes en la patogenia del SM (36). Se ha observado una asociación entre la disfunción endotelial y el déficit estrogénico (37), tanto en mujeres asintomáticas e HTA como en aquellas con enfermedad coronaria establecida (38).

En caso de la enfermedad cardiovascular, conocemos un número considerable de factores de riesgo, muchos de ellos modificables. Este conocimiento tienen su origen en estudios prospectivos; el primero de ellos es el estudio del corazón de Framingham (Framingham Heart Study). El estudio de Framingham se inició en 1948 con el objetivo de identificar aquellos factores o características comunes que contribuían a las enfermedades cardiovasculares, mediante el seguimiento a lo largo plazo de un gran número de individuos que en el momento de su incorporación al estudio, todavía no han manifestado evidencia clínica de la enfermedad. El estudio pionero y otros posteriores permitieron identificar los factores de riesgo mayores e independientes para enfermedad coronaria como:

- ✓ HTA sistémica
- ✓ Elevación de colesterol total y de colesterol de baja densidad (C-LDL)
- ✓ Disminución del colesterol de alta densidad (C-HDL)
- ✓ DM2

Factores predisponentes: aquellos que empeoran el peligro de los factores de riesgo independientes.

- ✓ Obesidad (IMC, perímetro de cintura)
- ✓ Inactividad física
- ✓ Antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura

El concepto de disfunción endotelial es uno de los más importantes desarrollados en los últimos 10 años dentro de la biología vascular y es un poderoso determinante prácticamente todas las enfermedades cardiovasculares. La alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio en las arterias coronarias, se demuestra en pacientes con aterosclerosis. No obstante, muchos de estos enfermos aun responden a la acción vasodilatadora de los llamados nitrovasodilatadores exógenos, como la nitroglicerina, que no necesita del endotelio para actuar sobre el MLV.

#### 5.4.4.2.1 Disfunción endotelial en la Menopausia

La función endotelial se altera en las mujeres posmenopáusicas. El ejercicio y los estrógenos incrementan el Ácido Ribonucleico mensajero (ARNm) para la enzima del Óxido Nítrico



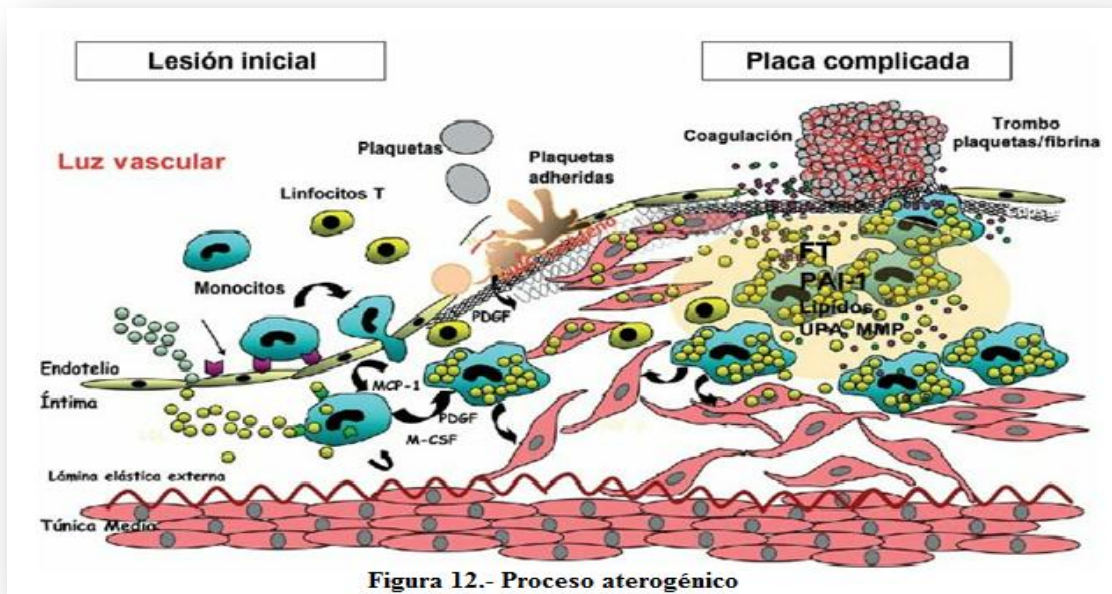
Sintasa (eNOS) y la infusión de estradiol potencia la vasodilatación dependiente del endotelio, por aumento de la producción de NO. La administración de estrógenos retarda la oxidación de las LDL a nivel del endotelio y el MLV existen receptores para 17 estrógenos.

#### 5.4.4.2.2. Disfunción endotelial en Hipercolesterolemia

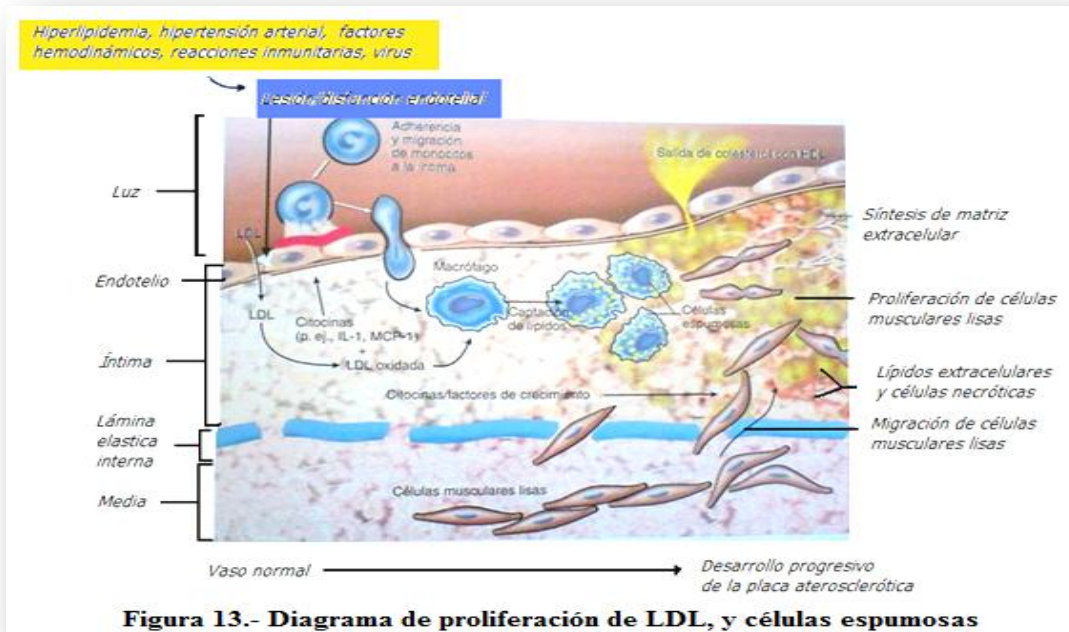
*Las LDL oxidadas tienen propiedades citotóxicas sobre el endotelio.*

En pacientes hipercolesterolémicos la vasodilatación dependiente del endotelio se altera antes de que se desarrollen las lesiones en la intima. Las LDL oxidadas producen una alteración endotelial compleja: aceleran el quimiotactismo de los monocitos y la producción de células espumosas de grasa, reducen la liberación de NO, disminuyen la disponibilidad de L-arginina, disminuyen la actividad fibrinolítica y aumentan la secreción del inhibidor de la activación del plasminógeno (PAI), lo que produce una alteración marcada de la relajación dependiente del endotelio y un estado protrombótico (39)

La hipercolesterolemia produce un reclutamiento de células inflamatorias en la intima arteria. Los niveles de E-selectina están elevados en los pacientes hipercolesterolémicos y desciende por acción de los fármacos hipolipemiantes pertenecientes al grupo de las "estatinas". Estos mejorarían la función endotelial y estabilizarían las placas inestables, y también tendrían un efecto antiinflamatorio. Las LDL pueden ser oxidadas por las células endoteliales, por los monocitos-macrófagos y por las células del MLV. Las LDL mínimamente oxidadas como la lisofosfatidilcolina, estimula la producción de la proteína quimiotáctica del monocito (MCP-1), moléculas de adhesión de células vasculares tipo 1 (VCAM-1) y moléculas de adhesión intracelular tipo 1 (ICAM-1), factores estimulantes de colonias y sustancias antifibrinolíticas (PAI-1) para aumentar la adhesión de monocitos y linfocitos T e iniciar el proceso de aterogénesis (ver figura 12) (40).



Las LDL oxidadas son captadas por los receptores de los macrófagos para formar las células espumosas grasas, que son monocitos macrófagos cargados de moléculas grasas que inician la lesión ateromatosa (ver figura 13).



El endotelio se encuentra muy por encima de una lesión aterosclerótica; produce enzimas de la familia de las metaloproteinasas: colagenasa intersticial, gelatinasa, elastasas y

estromelina, que dirigen y debilitan la cubierta de la placa aterosclerótica. En otras palabras, a mayor reclutamiento de células, mayor probabilidad de que se produzca un episodio coronario por ruptura de una placa.

#### 5.4.4.2.3. Disfunción endotelial en Hipertrigliceridemia

La hipertrigliceridemia aumenta la expresión de las moléculas de adhesión intracelular soluble tipo 1, y la molécula de adhesión celular vascular soluble tipo 1 (sICAM-1, sVCAM-1 y E-selectina). La lipoproteína A (Lp (A)) aumenta la concentración de ICAM y disminuye el nivel de TGF- $\beta$ .

### 5.5. Aterosclerosis

#### 5.5.1. Generalidades

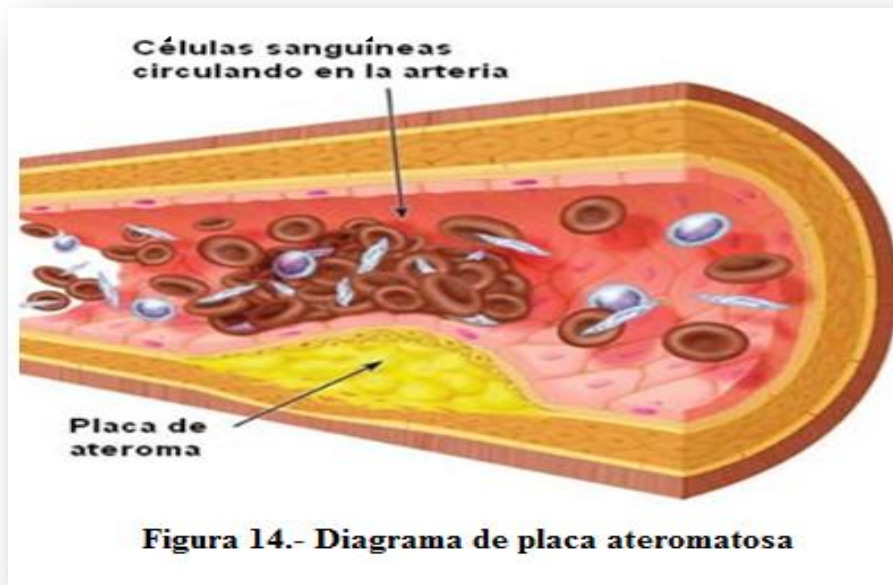
El interés de las lipoproteínas plasmáticas en bioquímica clínica se centra, fundamentalmente con la aterosclerosis. Esta alteración se caracteriza por la existencia de lesiones o placa ateromatosa en la túnica íntima vascular que constan básicamente de un núcleo formado por una acumulación de lípidos rodeada de tejido fibroso. Cuando progresa la lesión, se engrosa la íntima y se crean unas condiciones hemodinámicas que favorecen el desarrollo y complicaciones de la lesión. Las lesiones avanzadas o complicadas pueden dar lugar a estenosis, isquemia, aneurisma de dilatación, etc. La eventual ruptura de la envoltura fibrosa favorece la formación de un trombo que puede ocluir el vaso. Las expresiones clínicas de la aterosclerosis son un conjunto variado de enfermedades de las que destacan la cardiopatía isquémica (angina de pecho, infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca, arritmias de diversos tipos, síncope, muerte súbita, etc.), el accidente cerebral vascular y la aterosclerosis periférica. La aterosclerosis es el resultado de un proceso multifactorial, y se distingue los llamados *factores de riesgo*, que son aquellos factores que de un modo directo o indirecto favorecen al desarrollo de la aterosclerosis. Los factores de riesgo más destacables de la aterosclerosis son: trastornos del metabolismo lipídico, HTA, antecedentes familiares, tabaquismo, edad, trastorno de metabolismo de glúcidos, obesidad, sedentarismo y estrés. Los trastornos del metabolismo lipídico y HTA son considerados los factores más importantes.

- Es una enfermedad producida por el depósito de placas de ateroma en las paredes de los vasos sanguíneos, impidiendo el paso correcto de oxígeno y nutrientes a las diversas zonas del organismo.
- Es la causa más importante de los ataques cardíacos e infartos
- El inicio puede ser a los 30 años pero puede continuar hasta los 45.
- Es más común en hombres.
- Después de la menopausia las mujeres tienen el mismo índice de riesgo que los varones (ya que, durante la menopausia las protegen las hormonas femeninas).

- Los depósitos de colesterol obstruyen las arterias y provocan un endurecimiento en sus paredes, por lo que pierden elasticidad y se forman trombos que dificultan el paso de la sangre por la arteria (41).

### 5.5.2. Definición

La arterioesclerosis es el acumulo de grasa, colesterol y calcio en las paredes de las arterias provocando el engrosamiento de dichas paredes y por tanto el estrechamiento u oclusión de su luz, esto dificulta el riego sanguíneo (oxígeno y nutrientes) hacia diversos tejidos de nuestro cuerpo (ver figura 14).

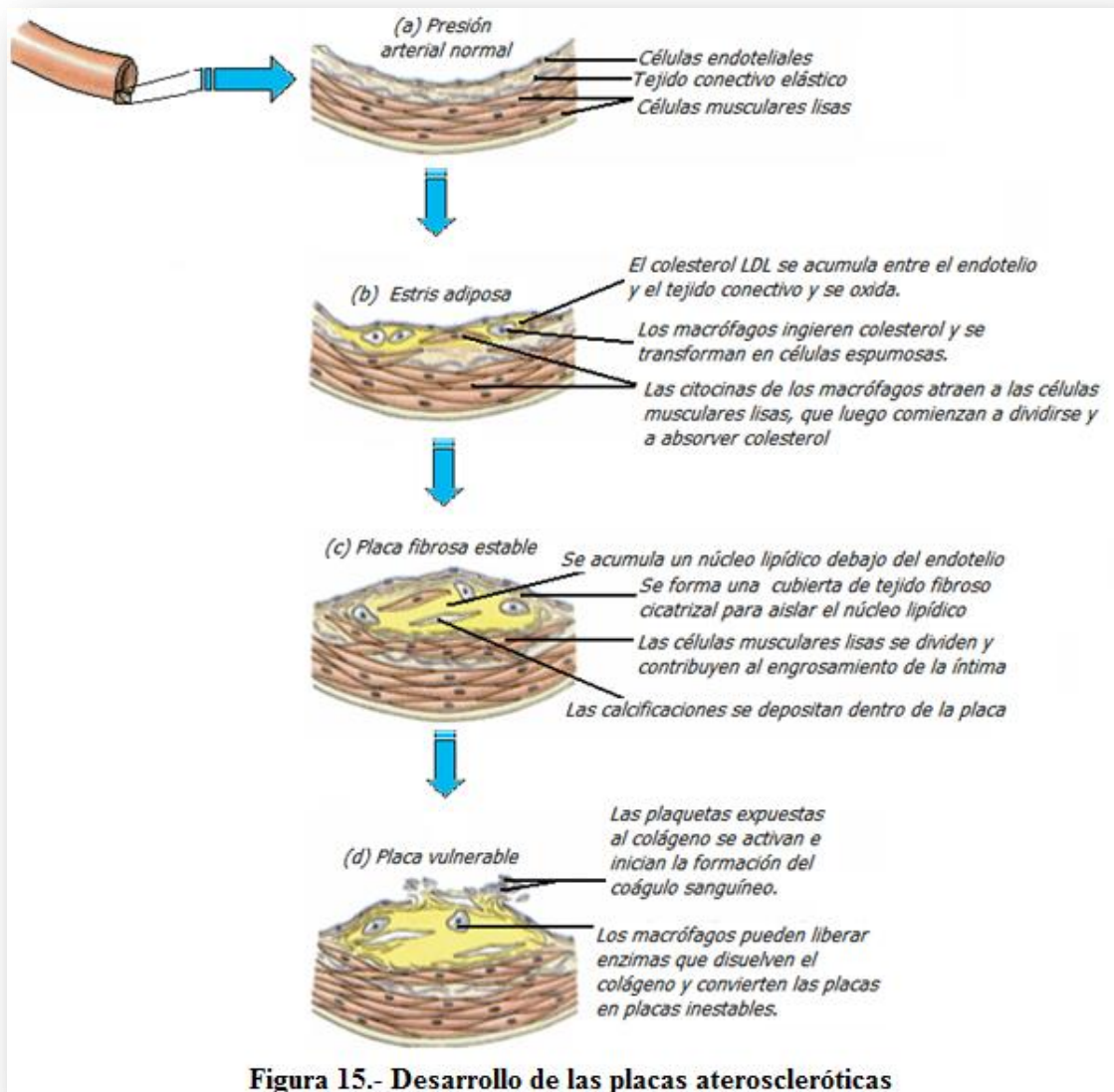


### 5.5.3. Formación de placa ateromatosa

La arteria aortica se extiende desde el plano vascular hasta el hiato diafragmático con una longitud de 30 cm. Se describen tres porciones:

- ✓ *Ascendente*: comienza con el plano valvular y finaliza en su unión con el arco aórtico en un recorrido de 5cm. En su origen exhibe forma cónica con un máximo de 39 mm a nivel de los senos de Valsalva y de 34 mm en el recorrido remanente.
- ✓ *Cayado o arco aórtico*: va desde la emergencia del tronco braquioencefálico hasta la subclavia izquierda, en un largo de 5 cm y un diámetro máximo de 36 mm; de aquí emergen los vasos del cuello.
- ✓ *Descendente*: desde la emergencia de la arteria subclavia hasta el plano diafragmático, tiene un alongitud de 20 cm y un diametro de hasta 30 mm.

La aterosclerosis comprende el endotelio vascular en forma creciente desde la región ascendente hasta la descendente, es más importante en sujetos de 60 años y se asocia con lesiones difusas en los eritrocitos coronarios, cerebrovasculares y vasculares periféricos. El ecocardiograma transesofágico (ETE) multiplano logra evaluar la arteria aorta desde la región valvular hasta la unión toracoabdominal, permite caracterizar la pared con sus placas ateroscleróticas y hasta definir su componente (fibroso, fibrocálcico o trombótico). Esta técnica ofrece información precisa acerca de la superficie intimal y sus componentes móviles, marcadores de mayor riesgo embólico. Supera la radiografía (Rx), tomografía computarizada (TAC), y resonancia magnética (RM). La aterosclerosis puede presentarse como placas protuyentes simples (<5mm), complejas (>5mm) o complicada con trombosis (debris) (ver figura 15 y 16).



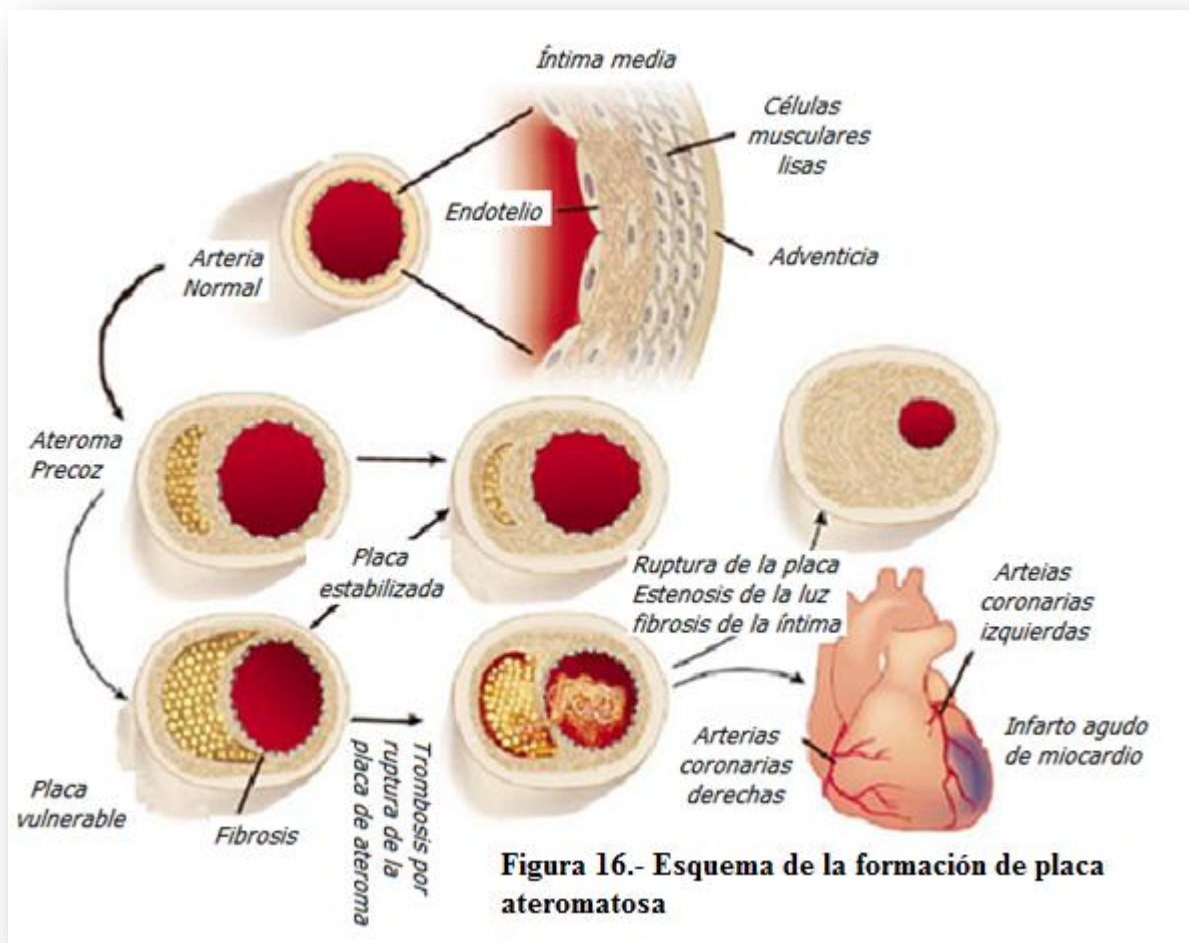
Utilizando ETE se propuso clasificar la aterosclerosis aórtica en 5 grados de acuerdo con el grosor de la placa y la presencia de trombos en su superficie, considerando enfermedad aterosclerótica los grados 3 a 5:

- I. Normal o grosor parietal  $\leq 2$  mm.
- II. Engrosamiento intimal difuso, plano y no protuyente.
- III. Placa simple (ateromatosis protuyente  $< 5$  mm).
- IV. Placa compleja (ateromatosis protuyente  $> 5$  mm).
- V. *Debris* órtico (ateromatosis protuyente complicada por un trombo móvil adherido a su superficie independientemente de su grosor).

Asimismo, acorde con su potencial emboligénico, el debris se ha subdividido en:

*Laminar*: es una placa ateromatosa inmóvil de superficie irregular, con un nicho ulceroso potencialmente trombogénico y riesgo embólico del 10%.

*Pendunculado*: es una placa ateromatosa que independientemente de su grosor, presenta un trombo móvil adherido a su superficie con un riesgo embólico de 70%. (42)



#### 5.5.4. Fisiopatología

La formación de la placa de ateroma sigue una evolución y el proceso inflamatorio participa tanto en la formación de la lesión inicial como en la progresión de la misma, así como en las

complicaciones derivadas de la placa inestable. Las fases fundamentales de este proceso son:

- ✓ **Disfunción endotelial:** es el estadio más precoz en el proceso aterogénico, que se observa antes de la aparición de las lesiones estructurales de la pared arterial. Se caracteriza por la alteración de la funcionalidad normal del endotelio, que se manifiesta como una anomalía en la homeostasis del tono vascular, entre los mediadores procoagulantes y anticoagulantes, entre las sustancias que inhiben o inducen la proliferación celular. Así se inhiben factores vasodilatadores, como el NO y las prostaciclina, y aumentan las sustancias vasoconstrictoras, como la endotelina. La respuesta al daño endotelial tiene dos efectos principales: aumento de la permeabilidad, que favorece la retención de partículas de LDL en la íntima (rodeadas de un ambiente oxidante y expresión de moléculas de adhesión que hace que aumente el número de linfocitos y monocitos que se adhieren al endotelio y se transforman en macrófagos gracias a la participación de las LDL oxidadas.
- ✓ **Inflamación y auto perpetuación de la placa de ateroma.** El primer cambio histológico son las estrías grasas, acúmulo de células musculares lisas y macrófagos cargados de lípidos (células espumosas) en el espacio subendotelial. Estas lesiones se distribuyen por todo el árbol arterial. La fase posterior se caracteriza por la aparición de las placas fibrosas, que son áreas prominentes hacia la luz vascular por engrosamiento de la íntima arterial y representan la lesión más característica de la aterosclerosis avanzada.
- ✓ **Fenómenos inflamatorios en las placas fibroproliferativas e inestables.** La lesión fibroproliferativa es una lesión ateromatosa muy estable, de crecimiento lento y poco susceptible a romperse o fisurarse. Por lo tanto, son lesiones que no suelen presentar complicaciones agudas. La placa de ateroma es una estructura dinámica en la que existe un equilibrio entre la influencia destructiva de células inflamatorias y el efecto estabilizador de las células musculares lisas. Cuando se produce la rotura o erosión de la placa de ateroma se expone al torrente circulatorio el núcleo lipídico que contienen factor tisular y matriz de colágeno, que son muy aterogénicos. Este acontecimiento induce la activación y la agregación plaquetaria, el depósito de fibrina y la formación del trombo.

#### 5.5.5. Población afectada

La aterosclerosis más afectada es frecuentemente a individuos masculinos. Las mujeres cuentan con un factor hormonal protector, que desaparece después de la menopausia. Ello condiciona una similitud respecto a la de los varones en el desarrollo de enfermedad coronaria. En mujeres la sintomatología de este trastorno se manifiesta con un retardo de casi 10 años en comparación con los hombres. La mayoría de los casos de alteración vascular aterosclerótica se observa en pacientes cuyas edades fluctúan entre los 40 y 70 años. (43)

## 5.6. Cascada de coagulación

### 5.6.1. Generalidades de la hemostasia

La hemostasia representa el cese fisiológico de la hemorragia por un mecanismo complejo que involucra un cambio de estado físico; de líquido a sólido con la formación de fibrina, y el enlace del coágulo en una malla insoluble. La coagulación sanguínea consiste de una serie de reacciones que finalizan con la formación de trombina, enzima proteolítica con la capacidad de transformar fibrinógeno a fibrina. En la actualidad se conoce la importancia que tienen las superficies celulares (plaquetas, células endoteliales, fibroblastos y monocitos) en la coagulación sanguínea. Las células tienen dos papeles básicos en la hemostasia normal; proporcionar los factores de la coagulación que no estén presentes en el plasma normal; y proporcionar una superficie para el ensamblaje de los complejos enzima/cofactor y su interacción con los sustratos para formar el coágulo de fibrina. En esta interacción dinámica entre proteínas y células se genera un poderoso mecanismo de amplificación con objeto de generar el coágulo de fibrina y detener la extravasación de sangre. El equilibrio dinámico entre los diferentes sistemas que componen la hemostasia permite que la sangre se mantenga fluida dentro de los vasos. En caso de existir una lesión en el endotelio vascular, se genera la activación de la hemostasia con la consiguiente obturación de la lesión; sin embargo, en condiciones patológicas donde exista la deficiencia de alguna proteína que participa en la hemostasia su traducción clínica puede ser hemorrágica. Por otro lado, en caso de existir una deficiencia de una proteína reguladora de la coagulación como la deficiencia de proteína C, esto genera una tendencia trombótica, sin embargo, existen defectos adquiridos más comunes como en la Coagulación Intravascular Diseminada (CID) que se caracteriza por una activación generalizada de la coagulación y la formación de microtrombosis en la microvasculatura (44).

Los modelos de la coagulación in vivo se han descrito desde finales de 1800, las primeras descripciones estuvieron relacionadas con aquellos individuos que desarrollaban trombosis. Se postuló que la formación de trombos se generaba debido a procesos inflamatorios, así fue como se demostró que la formación del coágulo de fibrina se genera a partir de un precursor llamado fibrinógeno y que esta conversión era enzimática, que esta enzima era la Trombina que provenía a su vez de la protrombina. De esta manera las investigaciones relacionadas con el mecanismo de la coagulación in vivo se hicieron en pacientes con trombosis. En los siguientes años más investigaciones fueron realizadas hasta conocer el factor que inicia la coagulación sanguínea para generar un coágulo de fibrina. Morawitz en 1904 (45-48) fue el primero que describió una teoría de la coagulación sanguínea; observó que los tejidos vasculares liberan una tromboplastina tisular necesaria para el inicio de la coagulación, hoy en día esta tromboplastina tisular se conoce como; Factor tisular o Factor III. En el transcurso de los años se fueron descubriendo los factores de la coagulación y se les asignó un número romano de acuerdo al orden de su descubrimiento (Factor I al XIII), de éstos el Factor VI no ha sido asignado, el Factor IV es mejor conocido como iones calcio y otros no recibieron un número romano como el cininógeno de alto peso molecular y la precalicreína. En los 60 dos grupos por separado proponen un nuevo modelo de la coagulación, (49,50) sugieren que la coagulación se lleva a cabo mediante un mecanismo en



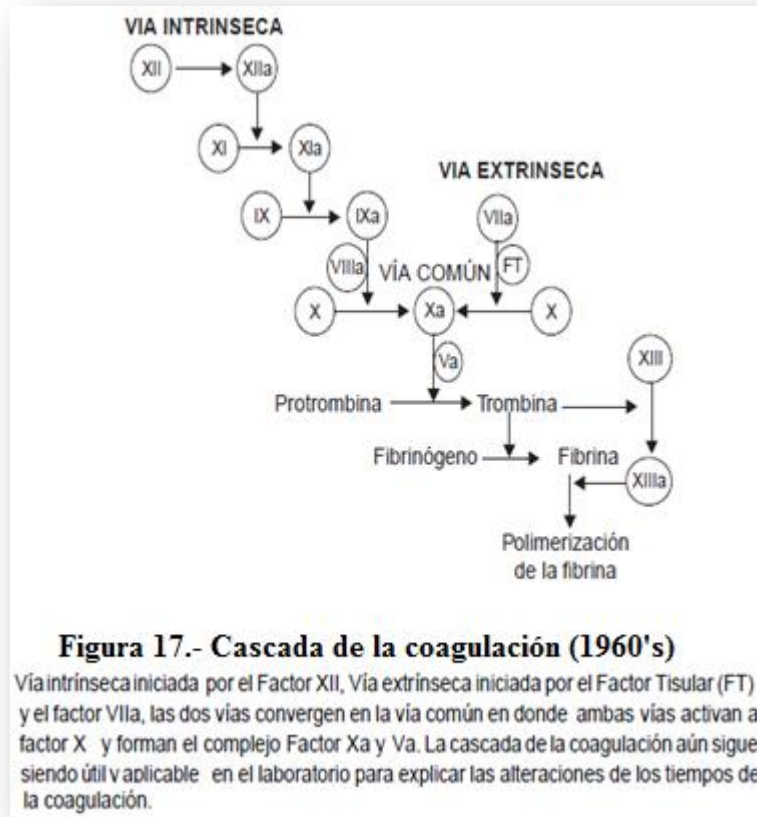
*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

cascada por medio de la amplificación enzimática, en este modelo la coagulación es separada en dos vías; la intrínseca y la extrínseca (ver cuadro 3 y figura 17).

**Cuadro 3.- Factores de coagulación, inhibidores y síntesis**

<b>Factor</b>	<b>Síntesis</b>	<b>Función</b>
<b>Procoagulantes</b>		
Fibrinógeno	Hígado, sitios extrahepáticos	Precursor de fibrina
Factor II (protrombina)	Hígado	Precursor de la trombina
Factor V	Hígado, endotelio, plaquetas	Cofactor en complejo protrombinasa
Factor VII	Hígado	Unido al factor tisular activa a factores IX y X
Factor VIII	Hígado, sitios extrahepáticos	Cofactor
Factor IX	Hígado	Activa al factor X
Factor X	Hígado	Convierte protrombina a trombina
Factor XI	Hígado	Activa al factor IX
Factor XII	Hígado	Activa al factor XI
Factor XIII	Hígado, sitios extrahepáticos	Une polímeros de fibrina
Precalcreína	Hígado	Activa al factor XII
Cinínógenos de alto peso molecular	Hígado	Activación del cofactor de factores XII y XI, genera bradicininas
Factor tisular (factor III)	Endotelio, monocitos	Cofactor
<b>Anticoagulantes</b>		
Antitrombina III	Hígado, sitios extrahepáticos	Inactiva la trombina, factores IXa, Xa, XIa, XIIa
Cofactor II de heparina	Hígado	Inactiva la trombina
Proteína C	Hígado, endotelio	Inactiva factores Va y VIIIa
Proteína S	Hígado, endotelio	Aumenta actividad de proteína C
Heparan sulfato	Endotelio	Ligadora de antitrombina III
Trombomodulina	Endotelio	Receptor de trombina permitiendo la unión a proteína C
TFPI (1-2)	Endotelio, hígado	Inhibe factores VIIIa, Xa
<b>Fibrinolíticos</b>		
Plasminógeno	Hígado	Precursor de la plasmina
tPA	Endotelio	Activa plasminógeno
Urocinasa	Riñón	Activa plasminógeno
<b>Antifibrinolíticos</b>		
Inhibidor de tPA-1	Endotelio, hígado, plaquetas	Inhibe tPA
Inhibidor de tPA-2	leucocitos	Inhibe tPA
$\alpha_2$ -antiplasmina	Hígado	Inactiva a la plasmina
TAFI	Hígado	Inhibe la activación del plasminógeno

TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular; tPA: activador tisular del plasminógeno; TAFI: Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina.



La hemostasia es un sistema biológico básico en los mamíferos que vigila la integridad de los vasos sanguíneos por medio de la interacción de elementos celulares y plasmáticos y mantiene la sangre fluida dentro de los vasos. El sistema se pone a prueba cuando en respuesta a la ruptura de un vaso sanguíneo, la sangre se expone al tejido extravascular iniciando las diferentes fases que lo componen. La hemostasia se compone de las siguientes fases: La hemostasia se divide en hemostasia primaria y hemostasia secundaria o coagulación ver cuadro 4 (52,53).

### 5.6.2. Coagulación sanguínea

La coagulación constituye un sistema que forma parte de la hemostasia donde participan principalmente los factores de coagulación, plaquetas, endotelio y leucocitos, cuadro 4. En la coagulación sanguínea la trombina es la enzima efectora del sistema de la coagulación, que además tiene una variedad de importantes funciones biológicas tales como: activación de plaquetas, conversión de fibrinógeno a fibrina, mecanismos de retroalimentación de amplificación e inhibición de la coagulación. La generación precisa y equilibrada de trombina en los sitios de daño vascular resulta en una serie de reacciones referidas colectivamente como coagulación sanguínea. El sistema de la coagulación es activado sobre la superficie de las células extravasculares por la exposición del factor tisular a la sangre. (54)

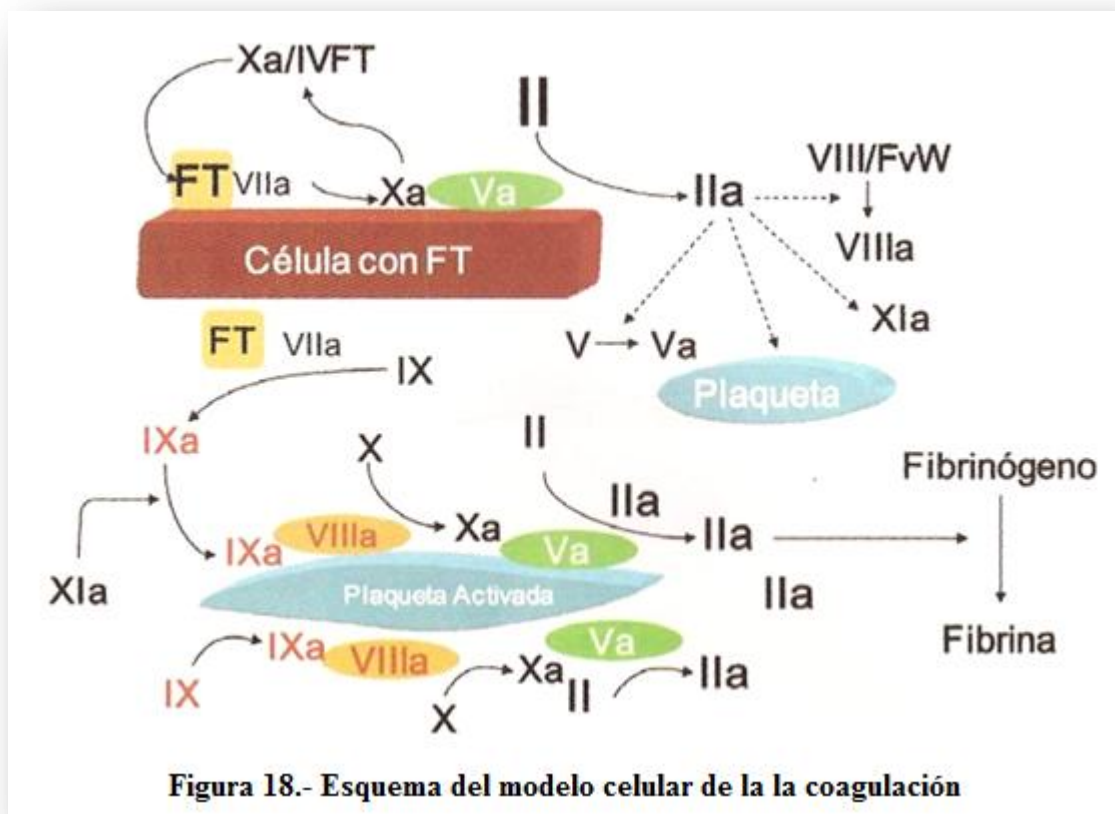
**Cuadro 4.- Fases de la hemostasia y elementos que la integran.**

Hemostasia Primaria	Hemostasia Secundaria
Endotelio	Endotelio
Plaquetas	Plaquetas
Proteínas:	Proteínas:
- Factor von Willebrand	-Factor von Willebrand/F.VIII:C
- Fibronectina	- Factores de la Coagulación:
- Osteonectina	I, II, V, VII, IX, X, XI, XII
- Trombospondina	Monocitos

La interpretación del proceso de coagulación publicada por MacFarlane (55) en 1964 "Cascada de MacFarlane" ha sido de gran utilidad durante muchos años para empezar a entender el complejo problema de la formación del trombo. Según MacFarlane, habría dos vías, la extrínseca formada por el factor tisular y el factor VII y la intrínseca, en la que participan los factores XII, XI, IX, VIII y V. Ambas vías convergen para activar el factor X y continuar conjuntamente el proceso de transformación de la protrombina en trombina y, a través de la trombina del fibrinógeno, en fibrina. Por otra parte, el papel de la plaqueta para terminar en agregación se consideraba un proceso independiente. Durante las tres décadas siguientes han tenido lugar múltiples investigaciones, que se resumen en 1994 en las publicaciones casi simultáneas de investigadores de Houston (56) y de Carolina del Norte (57). Ambos grupos coinciden para presentar una "nueva cascada", que ha sido aceptada internacionalmente, como demuestra el documento reciente de la TaskForce de la Sociedad Europea de Cardiología (58). Las aportaciones a la cascada clásica son las siguientes: 1. El complejo formado por el factor tisular y el factor VII participa en la activación del factor IX, por lo que las dos vías de la coagulación, intrínseca y extrínseca, van unidas casi desde el inicio del proceso. El proceso completo no se realiza de forma continua, sino que son precisas tres fases consecutivas; inicial, de amplificación y de propagación. En las dos últimas participan activamente la plaqueta y la trombina.

### 5.6.3. Modelo celular de la coagulación

El modelo celular de la coagulación propuesto por Hoffman, Monroe y Roberts, es dependiente de superficies celulares y del factor tisular. Al existir una lesión en el vaso sanguíneo, estos mecanismos fisiológicos de regulación dejan de funcionar y se favorecen los mecanismos proagregantes que permiten la interacción del vaso sanguíneo lesionado y las plaquetas (ver figura 18).



#### 5.6.3.1. Fases del modelo celular de la coagulación

➤ Fase inicial

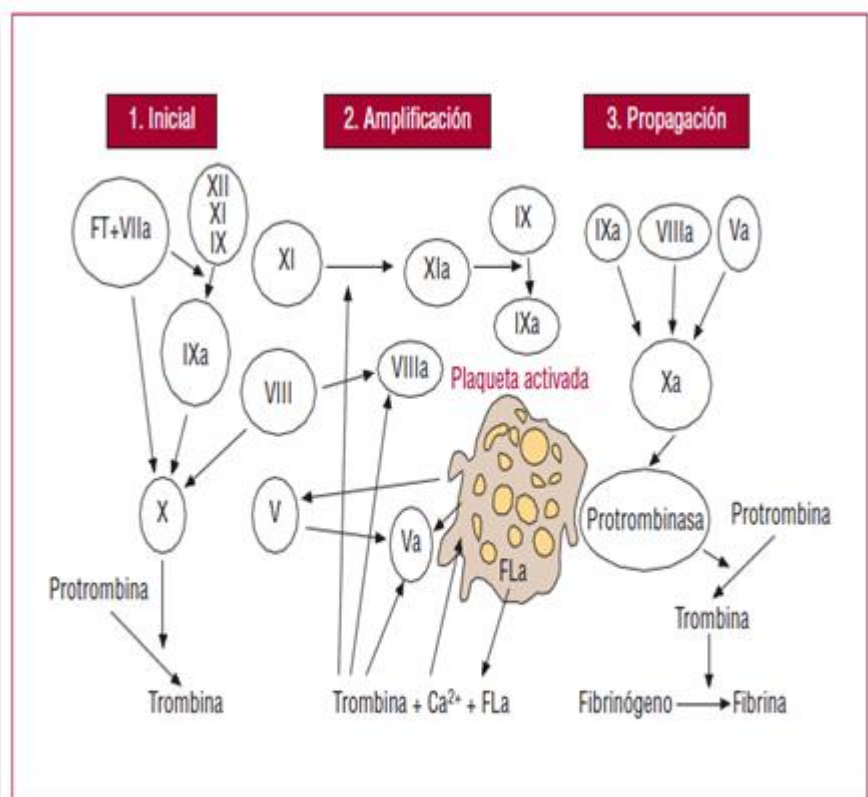
El complejo factor tisular-factor VII, de forma directa e indirectamente a través del factor IX, activa inicialmente el factor X transformando pequeñas cantidades de protrombina en trombina, que son aún insuficientes para completar el proceso de formación de la fibrina.

➤ Fase de amplificación

La trombina así formada, junto con el calcio de la sangre y los fosfolípidos ácidos, que provienen de la plaqueta, participa activamente en un proceso de retroalimentación para la activación de los factores XI, IX, VIII y V y, de forma especial, para acelerar la activación de la plaqueta. Simultáneamente, por mecanismos quimiotácticos, los factores mencionados son atraídos a la superficie de las plaquetas donde tienen lugar de forma muy rápida importantes procesos de activación y multiplicación.

➤ Fase de propagación

La amplificación del proceso por mecanismos de retroalimentación entre trombina y plaqueta y la activación de todos estos factores permiten activar grandes cantidades del factor X y formar el complejo protrombinasa para convertir la protrombina en trombina y, a expensas de ésta, el fibrinógeno en fibrina. El proceso final, siempre en la superficie de la plaqueta, se acelera para generar de forma explosiva grandes cantidades de trombina y fibrina (Figura 19)(59).



**Figura 19.- Fases de la coagulación según la nueva cascada.**

a: activado (los números romanos representan los factores de la coagulación); Ca<sup>2+</sup>: calcio. FLA: fosfolípidos ácidos; FT: factor tisular.

#### 5.6.4. Fisiología de la hemostasia

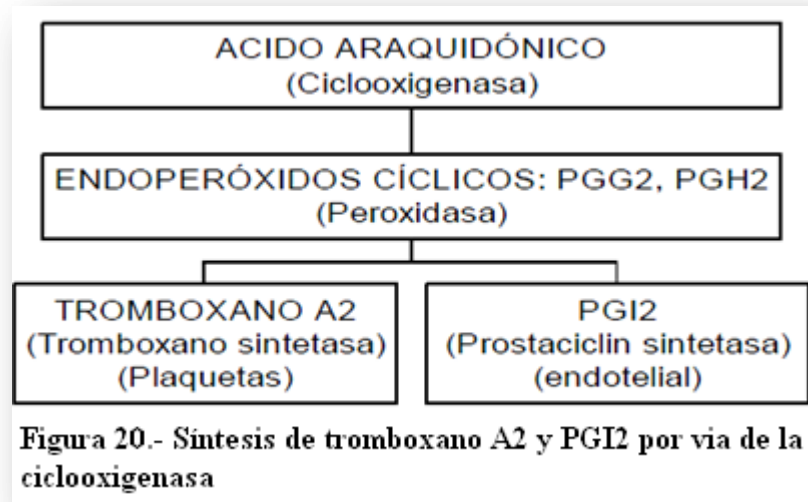
La hemostasia deriva de la adecuada interacción de tres sistemas: la hemostasia primaria, hemostasia secundaria y sistema fibrinolítico.

✓ Hemostasia primaria:

Formación del tapón hemostático primario. Depende de la integridad vascular (endotelio y subendotelio) y funcionalidad plaquetaria (alteraciones cuantitativas o cualitativas). Cuando se produce una lesión en un vaso el primer mecanismo para detener la hemorragia es una vasoconstricción local refleja y a continuación la formación del tapón hemostático plaquetario.

- Adhesión plaquetaria:** Las plaquetas se adhieren a las fibrillas de colágeno del subendotelio vascular mediante receptores de membrana: GpIa y GpIIa (en endotelio) y GpIb/IX (en la membrana plaquetaria) formando un puente con el factor von Willebrand (vWF).
- Activación:** La activación plaquetaria depende de la síntesis de Tromboxano A2 y PGI2 por la vía de la ciclooxygenasa (ver figura 20).

- c) **Secreción:** En los gránulos densos  $\delta$  y gránulos  $\alpha$  de las plaquetas existen sustancias que regulan la agregación y la activación de la coagulación: ADP, calcio, serotonina, PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas), Factor 4 plaquetario.
- d) **Agregación:** Formación del tapón plaquetario. Depende fundamentalmente del FVW y de otros factores estimulantes.



✓ Hemostasia secundaria.

Casi simultáneamente a la formación del tapón hemostático primario, se pone en marcha el proceso de coagulación dependiente de las proteínas plasmáticas, y que consiste en la formación de fibrina soluble a partir de fibrinógeno plasmático. Clásicamente este conjunto de reacciones y activaciones de proteínas se ha interpretado como una cascada en donde se distinguían dos vías: en vía extrínseca e intrínseca. Actualmente se considera que ambas vías no son independientes en absoluto, ya que la vía extrínseca activa también al FX a través del FXI, considerándola como el inicio fisiológico de la coagulación. Sin embargo, efectos didácticos y de pruebas diagnósticas, seguimos utilizando esta nomenclatura.

a) Vía extrínseca o del factor tisular:

Es una vía dependiente del Factor tisular (Tromboplastina) que forma un complejo con el Factor VII y el Calcio, convirtiendo al FVII en una proteasa activa que actúa sobre el factor X activándolo. Recientemente se ha visto la gran preponderancia de la vía del factor tisular en el mecanismo de la coagulación, surgiendo de este modo la llamada "hipótesis alterna o revisada del factor tisular": el factor tisular es el mejor indicador de la puesta en marcha del proceso coagulativo, al formar un complejo con el FVII, activándolo (FVIIa). Al mismo tiempo el factor tisular hace de cofactor del FVIIa para que actúe sobre IX y X.

b) Vía intrínseca o sistema de contacto:

El plasma contiene todos los elementos necesarios para la coagulación. En este caso la porción lipídica es el FP3. Los factores de contacto: FXII, Precalcreína, y cininógeno de alto peso molecular, se activan por el contacto con la piel, complejos Antígeno/anticuerpo, colágeno. El factor XIIa activa al XI y el XIa al IX, que forma complejo con el factor VIII, el FP3, y el Calcio (complejo protrombina) activando finalmente el factor X. Como ya se ha

citado anteriormente, el factor XI también es activado por el factor VII ("hipótesis alterna del factor tisular")

c) Vía común:

El Factor Xa forma un complejo con el factor V y el Calcio que convierte la Protrombina en Trombina.

d) Fibrinogénesis:

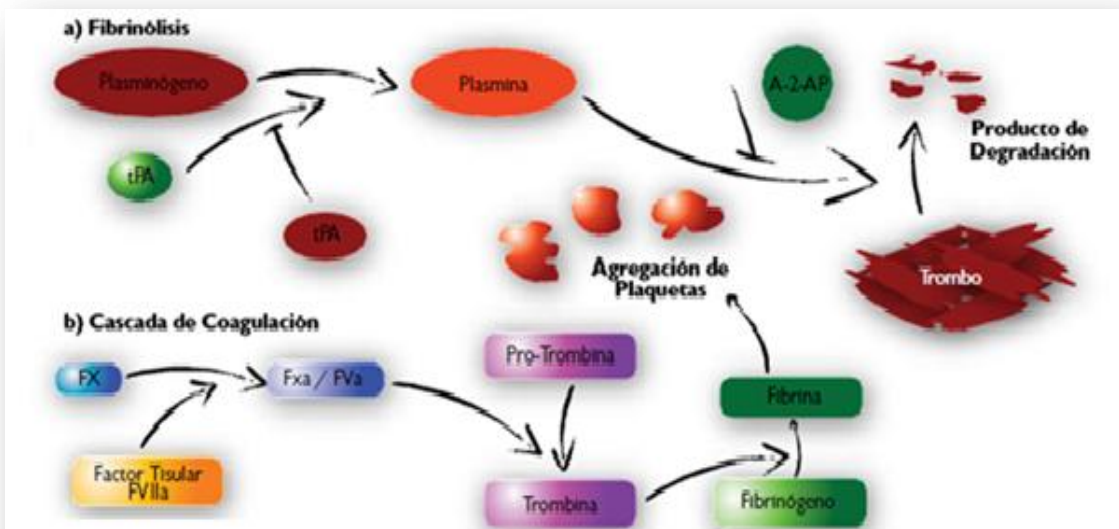
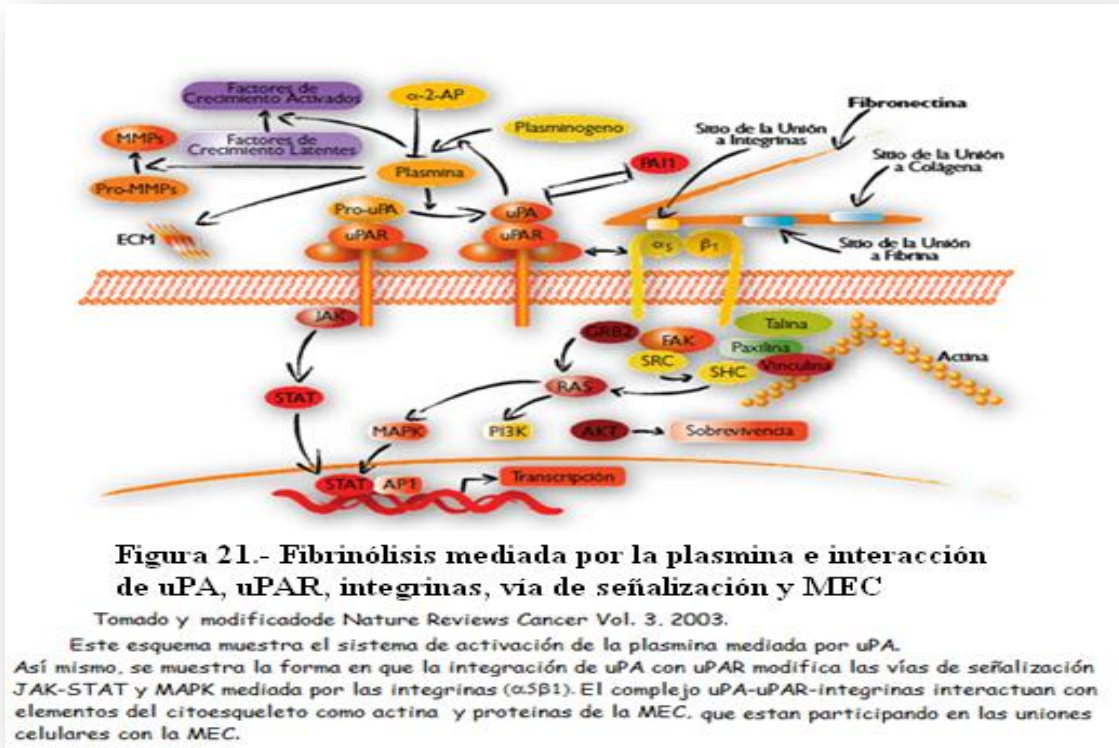
El papel fundamental de la Trombina es activar al factor XIII para actuar frente al Fibrinógeno convirtiéndolo en polímeros estables de Fibrina.

e) Fibrinólisis:

La lisis del coágulo comienza inmediatamente después de la formación del coágulo. Sus activadores son tanto por parte de la vía extrínseca (factor tisular), como por la vía intrínseca, factor XII, así como otros exógenos: Urocinasa, tPA (activador tisular del plasminógeno). Los inhibidores del proceso de fibrinólisis ayudan a mantener el equilibrio hemostático y evitar los fenómenos trombóticos: Antitrombina, Proteína C, Proteína S (60).

#### 5.6.5. Fibrinólisis o sistema de activación plasminógeno/plasmina

La fibrinólisis o degradación de las fibras, es la lisis o remodelación de los componentes de la MEC que se genera mediante una cascada de eventos proteolíticos. Debido a que el sistema plasminógeno/plasmina participa en la degradación de la MEC tanto en tejidos "sólidos" como en el sistema sanguíneo, puede decirse que este sistema participa en la fibrinólisis. Este sistema también interviene en algunos otros procesos biológicos como la regeneración tisular, menstruación e implantación embrionaria así como en la invasión tumoral (61). Al existir lesiones en el endotelio del sistema vascular se activa el sistema de coagulación, el coágulo formado principalmente por fibrina debe ser posteriormente degradado por la plasmina. La plasmina deriva de otra proteína denominada plasminógeno que de forma natural está en el plasma sanguíneo. El plasminógeno es activado por los PAs (activadores del plasminógeno), entre ellos la serina proteasa uPA (activador del plasminógeno tipo urocinasa) y tPA (activador del plasminógeno tipo tisular), los cuales efectúan una proteólisis parcial de la proteína para convertirla en plasmina activa. La degradación de fibrina durante los procesos de remoción de coágulos sanguíneos es llevada a cabo principalmente por tPA, mientras que uPA degrada la MEC en tejidos sólidos. Por lo tanto, la activación del plasminógeno se lleva a cabo bajo dos esquemas, uno en donde principalmente actúa tPA y en el otro uPA (ver Figuras 21 y 22). De manera natural, tPA en el plasma sanguíneo tiene una actividad enzimática débil, pero esta actividad aumenta cuando existe la presencia de fibrina, es decir de un coágulo. Esta actividad aumenta porque tPA tiene un dominio de unión específico a fibrina (uPA no lo tiene), el cual se puede unir a residuos de lisina de la región carboxilo terminal, haciendo que la concentración de tPA aumente en el sitio donde se encuentra el coágulo. También, el plasminógeno tiene afinidad por la fibrina, y entonces la presencia de ambas proteínas hace que la concentración de plasmina aumente en el sitio y se facilite la remoción del coágulo (62-65).



**Figura 22.- Proceso de fibrinólisis mediado por plasmina y cascada de coagulación**

En el panel a) podemos observar el esquema de la activación del plasminógeno y degradación del trombo mediado por la plasmina, este sistema está regulado por PAI-1,  $\alpha$ -2-AP y TAFI. En donde, PAI-1 evita la generación de plasmina mediante la inhibición de tPA,  $\alpha$ -2-AP y se une a la plasmina y evita que este degrade la fibrina. En el panel b) se muestra la activación de la cascada de coagulación que favorece a la formación del coagulo de fibrina y a la agregación plaquetaria.



#### 5.6.6. Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1)

PAI-1 es una glicoproteína de 50 kDa que está conformada por 379 aminoácidos, pertenece a la súper familia de las serpinas (inhibidoras de serinproteasas) que la conforman aproximadamente 40 miembros cuyas funciones principales son de inhibición. El gen que codifica a esta proteína se denomina *serpine1* y se localiza en el brazo largo del cromosoma 7 (7q21.3-q22). Este gen está constituido por 15 exones y puede presentar cinco isoformas. Es una proteína que participa en el sistema fibrinolítico. Es una glicoproteína que inhibe al plasminógeno. El PAI-1 es sintetizado en diversas células como: las plaquetas, células endoteliales, placenta, hepatocitos, células del músculo liso vascular y en los monocitos. Aproximadamente el 50% del plasminógeno se une a esta proteína, lo que reduce la cantidad de plasminógeno que puede unirse a la fibrina durante el proceso de coagulación. Su existencia ha sido controversial durante mucho tiempo de tal forma que hasta 1983 no se tuvo evidencia de la existencia real de dichos inhibidores que hoy pueden ser clasificados en cuatro grupos:

Tipo endotelial (PAI-1): Pertenece a la familia de los inhibidores de proteasas serínicas. Es el principal inhibidor fisiológico de los activadores tipo t-PA y u-PA y juega un importante papel en la regulación de la fibrinólisis. Este inhibidor ha sido clonado y su gen se localiza en el cromosoma 7. Los niveles plasmáticos de PAI-1 en sujetos sanos están entre 0,5- 40 U/mL, mientras que los de PAI-1 antigénico (plaquetario) están alrededor de 20 ng/mL el PAI-1 está en las plaquetas a nivel de los gránulos alfa y se libera por acción del colágeno y ADP. El hígado y el endotelio vascular también van a contribuir a la presencia en la sangre de este inhibidor. Numerosas sustancias van a regular su síntesis a nivel endotelial: endotoxina, interleucina 1 (IL-1), TNF- $\alpha$ , trombina y diversos factores de crecimiento aumentan dicha síntesis, mientras que la insulina sería el principal regulador de la síntesis de PAI-1 a nivel del hepatocito. Durante la agregación plaquetaria se produce un marcado aumento de los niveles de inhibidor. Puede encontrarse bajo tres formas moleculares: latente, activa y formando complejos con los activadores. El PAI-1 plaquetario esta en forma latente. El plasmático se encuentra fundamentalmente en su forma activa. En cuanto a su papel fisiopatológico se han observado cifras elevadas de PAI-1 en situaciones clínicas relacionadas con fenómenos trombóticos, mientras que varios miembros de familias con déficit de PAI-1 presentaron una moderada o severa sintomatología hemorrágica.

Tipo placentario (PAI-2): Es una alfa 2-globulina presente en altas concentraciones en el plasma de gestantes a término. Su papel fisiopatológico no se conoce con precisión, pero se ha observado un importante aumento en el tercer trimestre de la gestación, donde alcanza valores de 250 ng/mL. y más tarde fue detectado en plasma, en donde se encuentra a una concentración de 2  $\mu$ g/mL. Es semejante a otros inhibidores de proteasas serínicas. Aparte de inhibir a u-PA, también neutraliza a la trombina, factor X activado, factor XI activado y calicreína, reacciones que se ven aceleradas en presencia de heparina. En la actualidad se sabe que esta proteína es idéntica al inhibidor de la proteína C humana, y que disminuye en el curso de la coagulación intravascular diseminada.

**Proteasa nexina:** Es una proteína sintetizada por fibroblastos, células epiteliales, células miocárdicas y plaquetas. Inhibe u-PA, trombina, tripsina y tiene una alta afinidad por la heparina. No ha podido ser detectada en plasma, pero se piensa que posee una importante función a nivel de la matriz extracelular. (66)

El sistema activador del plasminógeno está implicado en los procesos de remodelación del tejido y juega un papel importante en la invasión tumoral y metástasis. Las principales proteínas integrantes de este sistema son el uPA, PAI-1 y PAI-2 y el receptor específico (uPAR). El PAI-1 se une tanto a uPA como al complejo uPA-uPAR. Sus funciones son numerosas y complejas, pero principalmente controlan la actividad proteolítica e influyen en la migración celular y la promoción o inhibición de la célula tumoral indiferenciada a través de la interacción con vitronectina. En varios cultivos celulares y modelos animales se ha encontrado que PAI-1 tiene un efecto proangiogénico por su capacidad de bloquear la proteólisis de uPA, integrina y vitronectina, controlando la migración celular y por proteger la matriz extracelular de una degradación excesiva. Por otro lado, algunos estudios han demostrado ("in vitro" e "in vivo") que el efecto pro o antiangiogénico de PAI-1 es dosis dependiente, siendo proangiogénico a concentraciones fisiológicas y antiangiogénico a niveles altos de expresión demostrando, por tanto, resultados contradictorios en relación a otros trabajos. El efecto proangiogénico o promigratorio de PAI-1 concuerda con los datos clínicos que indican que una alta expresión tumoral de PAI-1 se correlaciona con un peor pronóstico en una variedad de tumores. Los componentes uPA y PAI-1 han demostrado significancia pronóstica en pacientes con cáncer de mama. Altos niveles de uPA y PAI-1 se asocian con un peor pronóstico en cáncer de mama y otros tipos tumorales. El PAI-1 es el principal inhibidor fisiológico de la actividad del sistema fibrinolítico mediante la inhibición del tPA y del uPA, por lo que un incremento en su concentración plasmática se asocia a eventos trombóticos. Las interacciones de las células con su entorno son fundamentales para el buen funcionamiento e integridad de los tejidos, ya que éstos no solo están conformados por células sino que además contienen una red de componentes proteicos denominada matriz extracelular (MEC). La MEC es una estructura dinámica que está en constante remodelación (síntesis de nuevos componentes y degradación). Esta remodelación depende de varios mecanismos, como el sistema de activación plasminógeno/plasmina, el cual participa en la degradación de algunos componentes de la MEC, como la fibrina y algunas colágenas. Un componente importante de este sistema es la proteína PAI-1, encargada de regular dicho sistema, inhibiendo a la plasmina y, consecuentemente, evitando la degradación de la MEC. Algunas alteraciones en la regulación de este sistema se asocian a diversos procesos patológicos como fibrosis, trombosis y aterosclerosis, entre otras. Las fibras de colágena tienen una función estructural en la MEC y en el ser humano existen 13 tipos diferentes. Las fibras elásticas están conformadas principalmente por: a) elastina (presenta una mayor proporción), b) proteínas microfibrilares, c) lisil oxidasa y d) proteoglicanos

#### 5.6.6.1. Aterosclerosis, infarto al miocardio y trombosis venal

La sobre-expresión de PAI-1 se ha visto relacionada con las enfermedades vasculares. En modelos murinos, el incremento de esta proteína da como resultado la inhibición excesiva de

uPA y tPA perdiendo la eficiencia en la degradación de los trombos o coágulos generando entonces trombosis venal y un alto riesgo potencial en padecer un infarto al miocardio.

#### 5.6.6.2. PAI-1 y el síndrome de resistencia a la insulina y obesidad

La obesidad es un padecimiento de los países desarrollados. En obesos la proteína PAI-1 tiene niveles altos en el plasma sanguíneo, ya que los adipocitos sintetizan a esta proteína y esto ha correlacionado con los tratamientos para bajar de peso en donde los niveles de esta proteína bajan. Los pacientes con SIR se caracterizan entre otras cosas por padecer obesidad, un incremento en niveles de AGL y triglicéridos, además de HTA, hiperinsulinemia e hipofibrinólisis. En modelos murinos y en seres humanos se ha identificado que TNF y TGF- $\beta$  está incrementado en tejido adiposo y éstos en conjunto con la insulina/proinsulina, triglicéridos y ácidos grasos libres estimulan la expresión de PAI-1. Por otro lado, se ha demostrado que la hipofibrinólisis es causada por un incremento de PAI-1 y que las dietas hipocalóricas y el ejercicio físico tienen como resultado una baja en los niveles de PAI-1 en este síndrome. El PAI-1 está presente en niveles elevados y la actividad en varios estados de enfermedad tales como el cáncer, la obesidad, la enfermedad renal y el SM. Dependiendo de uniforme de alta actividad PAI-1 se define como >10-20 UI/mL, pero puede ser tan alta como 68 UI/mL. Se ha encontrado que una inserción (5G), eliminación (4G) polimorfismo en la posición 675 del PAI-1 promotor del gen de particular actividad transcripcional de PAI-1. Los aumentos de la concentración o actividad distinta de la que está menos estudiada y comprendida (61-67).

##### ✓ Alteraciones de la coagulación

En lo que se refiere a la coagulación, en el SM se han encontrado niveles elevados de fibrinógeno (68), lo que también fue observado por nosotros (69). Además se han encontrado niveles aumentados de tres de los factores vitamina K dependientes (FVII, FIX y FX) (47), factor XIII y factor von Willebrand (70). La hiperfibrinogenemia se explica principalmente porque las adipocinas IL-6 y TNF- $\alpha$  inducen la síntesis de proteínas de fase aguda como fibrinógeno y proteína C reactiva (PCR) a nivel hepático (71).

##### ✓ Alteraciones de la fibrinólisis

En cuanto al sistema fibrinolítico, el SM se caracteriza principalmente por aumento del PAI-1 (72), un reactante de fase aguda sintetizado por los adipocitos y las plaquetas (73), y cuya concentración plasmática se relaciona con la cantidad de grasa visceral (74), y con el polimorfismo de su región promotora -675 4G/5G (75). El plasma de sujetos con SM forma coágulos más densos que los individuos sin SM. Por otra parte, las personas con SM presentan tiempos de lisis del coágulo más prolongados que los individuos sin SM (76,77), lo que se explicaría principalmente por los altos niveles de PAI-1 (78).

##### ✓ Hiperactividad plaquetaria

Las plaquetas en reposo, de forma discoide y 1,5-3  $\mu$ m de diámetro, normalmente no se unen al endotelio normal, pero sí al endotelio dañado (79). Al ser activadas, junto con cambiar de forma, desarrollan varios procesos, entre otros: cambio conformacional de la

GPIIb-IIIa que une fibrinógeno y FvW, expresión de P-selectina y factor tisular, liberación de agonistas plaquetarios (ADP, TxA2 y serotonina), PF4 y factores de la coagulación, entre otras moléculas. En resumen, ocurren los fenómenos de adhesión, secreción y agregación plaquetaria, todo lo cual también favorece la coagulación y unión de leucocitos (80).

La contribución de las plaquetas al estado protrombótico del SM se ha relacionado a una respuesta aumentada de las mismas (81-86), observándose algunos marcadores de activación plaquetaria y liberación de macropartículas plaquetarias (87), todos hallazgos relacionados al proceso de formación del trombo arterial (88). Se han descrito algunas alteraciones en las plaquetas de individuos con SM, las que podrían favorecer su activación: disminución de la fluidez de su membrana, posiblemente producto de cambios en su composición lipídica; aumento del metabolismo del ácido araquidónico con incremento en la producción de TxA2 y aumento de calcio libre intracelular. La presencia de LDL-ox también podría contribuir a la activación plaquetaria, ya que éstas presentan receptores de LDL-ox (CD36 y LOX-1) (89, 90). Otro hallazgo descrito en las plaquetas de individuos con SM es que presentan aumento de su volumen, lo que podría servir como marcador de activación plaquetaria (91).

Se ha descrito que la hipertrigliceridemia y los AGL favorecen la agregación plaquetaria *in vitro* (92). Por otra parte, la hiperactividad plaquetaria que se observa en pacientes con SM se ha relacionado directamente con el nivel sérico de adiponectina (93-96) y de leptina (97-99); para esta última existen receptores en las plaquetas (100, 101). En el SM las plaquetas podrían tener participación precoz en el proceso aterogénico en asociación con la disfunción endotelial. Se ha descrito que las plaquetas tienen algún rol en el proceso inflamatorio de la aterogénesis (102-104). Así, inicialmente la unión de plaquetas al endotelio activado (disfuncional) ocurriría a través de las moléculas P-selectina/ PSGL-1 (*P-selectina ligando a glicoproteína-1*), luego por unión de glucoproteínas 1b y Factor de Von Willebrand (GPIb/FvW) y posteriormente vía integrinas (GPIIb-IIIa/ ICAM-1 o  $\alpha V\beta 3$ ). Así las plaquetas se activan y secretan moléculas que favorecen el proceso inflamatorio propio de la aterogénesis, favoreciendo la activación del endotelio, y reclutando monocitos y otras plaquetas. Entre dichas moléculas se pueden mencionar:

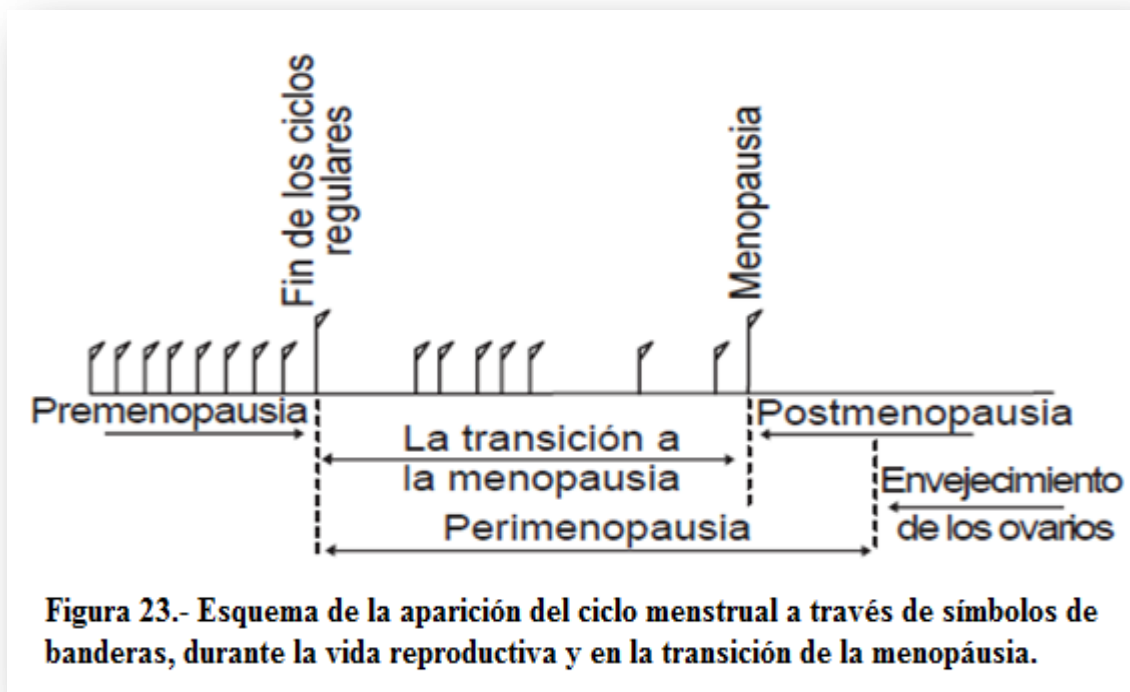
- IL-1 y CD40L participan en la alteración de las CE, las que luego liberan MCP-1 (*proteína quimiotáctica de monocitos*); los monocitos reclutados expresan ICAM-1, molécula que favorece la unión de leucocitos, todo lo cual favorece el fenómeno inflamatorio. Hemos encontrado que el CD40L se encuentra aumentado en individuos con SM.
- PF4 activa a los linfocitos T vía quimiocina CXCR3; así estimula la secreción de citocinas y favorece la inflamación.
- RANTES (CCL5) actúa como quimioattractante para monocitos (105, 106)
- PDGF (*Factor de crecimiento derivado de plaquetas*) estimula la proliferación de células musculares provocando hiperplasia de la capa íntima de la pared vascular y también tiene una función quimiotáctica para monocitos, actuando como amplificador de la respuesta inflamatoria (107).
- ENA-78 (*Neutrófilo activador del péptido-78, CXCL5*) participa en el reclutamiento de monocitos al sitio de la lesión (108).

- ADP, TxA2 y serotonina, entre otras, favorecen el reclutamiento de más plaquetas (56), lo que podría amplificar el fenómeno. Los antecedentes anteriores indican que las plaquetas, en un contexto de disfunción endotelial, pueden contribuir al proceso inflamatorio de la aterogénesis (109-111). Siendo la aterogénesis del SM un proceso inflamatorio que se desarrolla a largo plazo, es probable que las plaquetas participen (112).

## 5.7. Menopausia

### 5.7.1. Definición

La menopausia se define como el cese permanente de la menstruación, el resultado de la pérdida de la actividad folicular ovárica. Se considera que esta ocurre después de 12 meses consecutivos de amenorrea. La transición de la menopausia es el tiempo antes del último periodo menstrual cuando se presentan irregularidades en el ciclo menstrual (ver figura 23) (113).



### 5.7.1. Climaterio

El climaterio o perimenopausia comienza varios años antes de que se produzca la menopausia, incluye el período inmediatamente anterior a la menopausia (cuando comienzan las manifestaciones endocrinológicas, biológicas y clínicas) como mínimo se prolonga hasta el primer año siguiente a la menopausia. La postmenopausia se refiere al período que comienza a partir de la menopausia, si bien este momento no se puede

determinar hasta que se hayan observado doce meses de amenorrea espontánea. Durante la transición de la etapa reproductiva a la no reproductiva, la mujer experimenta una serie de eventos, los cuales se inician varios años antes de que ocurra la menopausia. Alrededor de los 35 años, antes de cualquier alteración del ciclo menstrual y de las variaciones detectables en las concentraciones de estradiol, comienza a elevarse la hormona folículo estimulante (FSH) en la fase folicular temprana (114). Generalmente después de los 40 años la fase folicular del ciclo se acorta, los niveles de estradiol, inhibina y de folículoestatina disminuyen y los de la FSH comienzan a elevarse. Posteriormente los niveles de la hormona luteinizante (LH) también aumentan aunque en menor proporción que la anterior (115, 116). Los folículos disminuyen y es más frecuente la ovulación prematura y la fase lútea insuficiente con disminución de la producción de progesterona, lo que produce un exceso de estrógenos en relación a la hormona anterior (117). Cerca de la menopausia, los ciclos menstruales a menudo son irregulares con anovulación intermitente, los niveles de las gonadotropinas son erráticos, es frecuente el hiperestrogenismo relativo con disminución de la progesterona. Clínicamente esto se manifiesta con sangrados vaginales irregulares, pueden existir períodos de amenorrea con valores de FSH y LH elevados, similares a los hallados en la menopausia, pero cuando se produce la ovulación, los niveles hormonales pueden volver a límites normales (118-120). Finalmente, los folículos ováricos dejan de responder a las FSH y LH; el estradiol desciende a menos de 20 pg/mL, la progesterona es indetectable y clínicamente hay cese de la menstruación. Algunos autores consideran que estos cambios corresponden a tres fases caracterizadas por una serie de cambios hormonales (cuadro 5). Después de la menopausia cambia el origen y la naturaleza del estrógeno circulante, ya que durante la vida reproductiva predomina el estradiol y en la postmenopausia la estrona. El primero es producido por el ovario y la segunda proviene en su mayoría de la conversión periférica de los precursores androgénicos en el tejido adiposo, músculo e hígado (121-123).

**Cuadro 5.- Eventos endocrinológicos durante el climaterio**

EVENTO	FASE I	FASE II	FASE III
FSH	Ligera elevación	Continúa elevándose	Elevada
LH	Niveles normales	Normal o lig. elevada	Elevada pero < q.FSH
Estrógenos	Disminuyen, pero en relación a la progesterona están elevados.	Exceso pero en relación a la progesterona	< 20 pg/ml
Progesterona	Comienza a disminuir	Continúa disminuyendo	Indetectable
Ciclos Menstruales	Normales o irregulares	Irregulares, sangrados frecuentes	Amenorrea
Ovulación	Normal o prematura	Errática, anovulación frecuente	Ninguna

### 5.7.3. Signos y síntomas relacionados con el climaterio.

El climaterio se asocia con signos y síntomas típicos relacionados con la deficiencia de estrógenos, tales como amenorrea, bochornos, períodos de sudoración y sequedad vaginal. Pueden presentarse otras condiciones como alteraciones psicológicas, emocionales y psicósomáticas, no asociadas al hipoestrogenismo. Se ha sugerido que existe una variación cultural en la presencia de estos síntomas, ya que se ha reportado en el 75 a 80% de las mujeres occidentales, en tanto que en otras culturas la frecuencia es mucho menor. No se sabe si esta variación se debe a diferencias en la fisiología o en la percepción que tienen las mujeres de sus síntomas (cuadro 6) (124- 130).

**Cuadro 6.- Signos y síntomas asociados al climaterio**

**TÍPICOS:**

Amenorrea

Bochornos

Crisis de sudoración

Alteraciones del tracto genitourinario:

Vulva: atrofia y prurito

Vagina: atrofia, dispareunia,  
vaginitis, sequedad

Uretra y vejiga: disuria, infecciones  
frecuentes, uretritis.

**GENERALES:**

Alteraciones psicológicas

Alteraciones emocionales

Alteraciones psicósomáticas

### 5.7.4. Alteraciones metabólicas de la menopausia

La menopausia está asociada a múltiples alteraciones metabólicas: alteraciones de las lipoproteínas, la acción de la insulina sobre el metabolismo carbohidratos, distribución de la grasa corporal, factores de la coagulación y función vascular. Diferentes mecanismos son los responsables de tales eventos, pero podría haber un factor común a todos ellos que sería la IR conformando el SM. Los factores etiológicos serían: la hipoestrogenemia de la menopausia, el envejecimiento, el sedentarismo, el sobrepeso, hábito de fumar, etc.

En la perimenopausia se asocia con aumento de la lipoproteína lipasa, siendo la alteración lipídica más temprana (131).

El depósito de masa grasa y, particularmente, la masa grasa central es también responsable del aumento en los niveles circulantes de adipocitocinas, implicadas en el desarrollo de resistencia a la acción de la insulina y de la enfermedad cardiovascular. Concretamente, en estudios realizados en mujeres obesas postmenopáusicas con SM se ha observado un aumento en los niveles circulantes de leptina y resistina, así como una disminución en los niveles de adiponectina (132). En las mujeres posmenopáusicas, el papel de las hormonas

sexuales sobre algunos de los componentes del SM ha sido muy controvertido pero de vital importancia por la estrecha relación entre enfermedades metabólicas y cardiovasculares. En este sentido, el riesgo de aparición de enfermedad cardiovascular aumenta después de la menopausia, posiblemente por los cambios metabólicos sustanciales que tienen lugar en las mujeres en el proceso de transición desde la premenopausia hasta la menopausia. Por tanto, alteraciones en el metabolismo lipídico, junto con una deficiencia estrogénica, parecen ser los componentes sustanciales del riesgo cardiovascular en las mujeres posmenopáusicas (133), pero también existen efectos directos de la deficiencia estrogénica sobre la distribución de la grasa corporal, la acción de la insulina, la pared arterial y la fibrinólisis, que pueden influir sobre el riesgo cardiovascular. Por ello, este perfil metabólico empeora en las mujeres posmenopáusicas, pudiendo contribuir al riesgo futuro de la enfermedad cardiovascular (134).

### 5.7.5. Menopausia y peso corporal

El tejido adiposo visceral difiere considerablemente en relación a la grasa subcutánea. Una de estas diferencias estriba en su gran sensibilidad a los estímulos lipolíticos, que determinan secreciones tónicas de AGL hacia la circulación portal, estableciendo así, el primer paso en una serie de eventos que terminan con la generación de IR (135). A partir del reconocimiento de las amplias capacidades bioquímico-endocrinas del tejido adiposo, se han reconocido diferencias de funcionamiento y capacidad secretora entre el tejido adiposo pardo y el tejido adiposo blanco y a su vez, diferencias, así mismo, sustanciales entre los depósitos de tejido blanco que integran los depósitos subcutáneos con el localizado en el área perivisceral, siendo, al parecer, estas diferencias las que establecen la correlación con las comorbilidades obesidad dependientes (Cuadro 7) (136).

**Cuadro 7.- Diferencias entre las propiedades bioquímicas del tejido adiposo visceral y subcutáneo.**

Factor	Diferencia regional
Leptina (Proteína y RNAm)	Sc > visceral
Diferenciación preadipocitaria por TZD'S	Sc > visceral
Respuesta lipolítica a catecolaminas	Sc < visceral
Efecto antilipolítico de insulina	Sc > visceral
Actividad de 11 $\beta$ -HSD	Sc < visceral
Afinidad de receptores adrenérgicos $\beta$ 1 y $\beta$ 2	Sc < visceral
Incremento en LPL inducido por dexametazona	Sc < visceral
Inhibición de AMPc por agonista adrenérgico $\alpha$ 2	Sc > visceral
Afinidad del receptor de insulina	Sc > visceral
Expresión de proteína IRS-1	Sc > visceral
Receptor de insulina	Sc < visceral
RNAm del receptor de glucocorticoides	Sc < visceral
RNAm de cIAP2	Sc < visceral
RNAm del receptor de andrógenos	Sc < visceral
Proteína IRS-1	Sc > visceral
Proteína PAI-1	Sc < visceral

Sc = Subcutáneo.

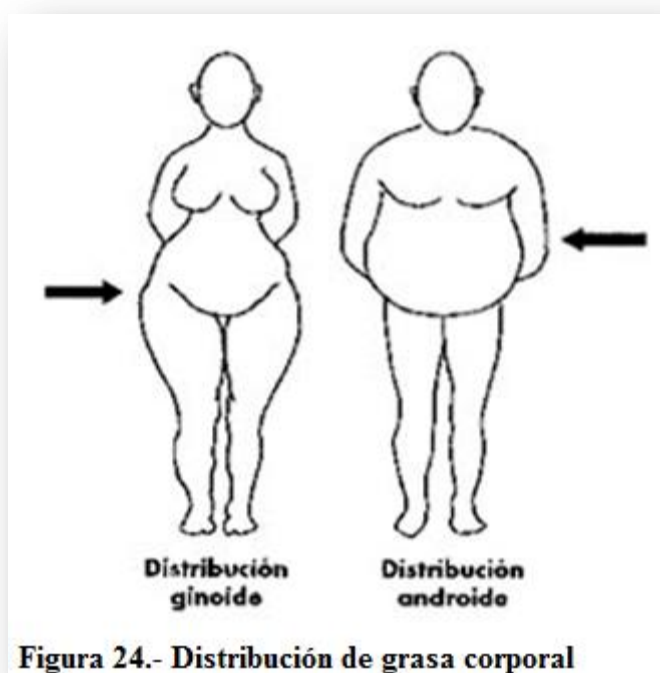


En lo que se refiere a los efectos de los esteroides sexuales, existen algunos datos relativos a la activación de la lipoproteínlipasa por los estrógenos, a nivel de grasa visceral. Los andrógenos tienen un efecto de reducción de la actividad de esta enzima y se encuentra, en el tejido visceral una gran cantidad de receptores androgénicos, sin embargo, estas observaciones encuentran su contradicción con el efecto de la administración exógena de andrógenos, como la testosterona en sujetos con hipogonadismo, comparados con lo que ocurre en mujeres normales (137). La lista de productos biológicos secretados por el tejido adiposo es larga y cada vez mayor. Entre las hormonas y citocinas descritas encontramos a la leptina, TNF- $\alpha$ , IL-6, adiposina, factor de complemento C3, angiotensinógeno, PAI-1, adiponectina, perilipinas, resistina, algunas de las cuales han mostrado una capacidad secretora dependiente del sitio regional de su producción primaria (138). Los niveles de ARNm de leptina son marcadamente superiores en la grasa subcutánea, contra lo que ocurre en la grasa visceral, como resultado, los niveles plasmáticos de leptina tienen una correlación mayor entre la cantidad de grasa subcutánea y una pobre correlación con los niveles de grasa visceral (139). La obesidad central ha sido asociada con eventos aterotrombóticos. Entre los hallazgos característicos de esta asociación mórbida se encuentran los elevados niveles del PAI-1, que, ha sido demostrado, se produce de manera predominante en los adipocitos viscerales, comparando con la producción que se lleva a cabo en grasa subcutánea y contribuyendo a la correlación potencial entre obesidad central y componente trombótico de los eventos cardiovasculares (140).

Todas las evidencias apuntan a que la tasa metabólica basal disminuye en el periodo menopáusico; este hecho se debe principalmente a una reducción de la utilización de calorías, motivada a su vez por el menor gasto energético derivado del considerable descenso de la actividad física y el consiguiente aumento en el peso corporal (141).

El tejido adiposo es un órgano que secreta una gran variedad de moléculas, conocidas como adipocinas TNF- $\alpha$ , IL-6, leptina, adiponectina y resistina, que actúan en muy distintos tejidos blanco. Se ha demostrado que los valores bajos de leptina producen un aumento de la enfermedad cardiovascular, independientemente de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales, del índice de masa corporal o de las concentraciones de proteína C reactiva. La adiponectina es la más abundante de las hormonas procedentes del tejido adiposo, aumenta la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos y tiene, además, un efecto antiinflamatorio. Las señales procedentes del tejido adiposo a través de estas adipocinas (adiponectina y otros péptidos del tejido adiposo) actúan en el cerebelo y el mesencéfalo a través de distintas señales (monoaminas, neuropéptidos, etc.), y modulan el apetito y la función de distintos órganos, como el páncreas o el músculo. Hay una excelente correlación entre los valores sanguíneos de adipocinas (leptina, adiponectina, resistina, TNF- $\alpha$ , PAI-1, IL-1 e IL-6) y los hallazgos histológicos de disfunción endotelial, lo que crea un ambiente favorable para el desarrollo de la arteriosclerosis. EL tejido adiposo puede desempeñar un papel importante en el desarrollo del SM, ya que se ha encontrado una relación inversa entre las concentraciones de adiponectina, la obesidad, el proceso inflamatorio y la resistencia a la acción de la insulina (142)

Luego de la menopausia se produce una redistribución de la grasa corporal, que pasa de presentar una configuración ginecoide a ser androide (ver figura 24); esto trae como consecuencia un perfil lipídico adverso y un aumento de la IR (143). La disminución de los niveles de estradiol puede también traer cambios en el perfil lipídico. Los estrógenos no solo poseen una acción favorable sobre el perfil lipídico sino que además actúan aumentando el gasto cardiaco, disminuyendo la resistencia vascular sistémica, aumentando el flujo visceral y reduciendo ligeramente la presión arterial media.(144) Tienen un efecto anti-aterogénico, pues mantienen la integridad del endotelio, disminuyen la velocidad de deposición de las LDL en la pared arterial e inhiben la oxidación de estas, modulan el tono arterial por su acción bloqueadora de los canales de calcio en la membrana celular del musculo liso y de los miocitos cardiacos y tienen, además, acción sobre la liberación de neurotransmisores en la unión presináptica (145).



#### 5.7.6. Alteraciones cardiovasculares en las mujeres menopáusicas

En el desarrollo de la enfermedad cardiovascular que aqueja a la mujer se debe considerar la acción conjunta de múltiples factores de riesgo (146). La HTA es uno de los factores principales y está estrechamente ligado a la edad. La elevación de las cifras en la tensión arterial también se observa en pacientes que presentan otros factores de riesgo como la diabetes, la obesidad y las dislipoproteinemias (147).

En lo que respecta a la relación existente entre la menopausia y la HA el debate continúa dado por la gran discrepancia de criterios que existe entre los grupos que trabajan en este tema. Algunos estudios sugieren que la hipertensión es más frecuente en mujeres cuya función ovárica ha cesado, (148). No se puede afirmar que la menopausia induzca "diabetes", probablemente el déficit estrogénico permita la exteriorización de una diabetes

latente (149). El hábito de fumar triplica el riesgo de infarto de miocardio en la mujer, asociándose el tabaquismo con otros daños en ella tales como la disminución en la edad de la menopausia, etc. El cese de este hábito produce una importante reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular. (150, 151)

En los últimos años, la evidencia de que la menopausia produce un aumento en las enfermedades cardiovasculares en las mujeres igualando o superando la frecuencia de los hombres de la misma edad, han llevado a suponer que el hipoestrogenismo pudiera ser uno de los factores causales. En efecto estudios epidemiológicos han demostrado que las mujeres que toman terapia de reemplazo hormonal con estrógenos después de la menopausia disminuyen su tasa de enfermedad cardiovascular en forma significativa. Los elementos responsables de estos cambios son los siguientes:

- ✓ Cambios lipídicos
- ✓ Cambios en los mecanismos de Aterogénesis
- ✓ Cambios vasculares

Alteraciones lipídicas: la menopausia produce una elevación en los niveles de colesterol total y una disminución en los niveles de colesterol HDL. Si bien, el colesterol no es el único de los factores necesarios para inducir aterogénesis estos cambios son claramente desfavorables y aumentan el riesgo de enfermedad vascular especialmente coronaria. Cambios en los mecanismos de la aterogénesis: la ausencia de estrógeno produce un cambio en los niveles de oxidación del colesterol de las LDL. Las LDL son las lipoproteínas que producen los depósitos lipídicos en la pared arterial. La captación de estas lipoproteínas por los macrófagos se ve aumentada cuando estas moléculas están oxidadas. El estado de oxidación se ve favorecido cuando no existen estrógenos. Además del aumento del flujo de colesterol de LDL (aterogénico), a nivel de las arterias existen otras condiciones relacionadas con el hipoestrogenismo que favorecen la aterosclerosis. Uno de ellos es la alteración del metabolismo de la insulina que ocurre en la menopausia. En este estado ocurre un cierto grado de IR en las mujeres, hecho que también favorece la aterogénesis. Cambios vasculares: el tono arterial está regulado por una serie de mediadores locales y sistémicos. Los estrógenos parecen modular alguna de las acciones o secreción de estos mediadores. Uno de los más importantes es la endotelina-1 (vasoconstrictor) y el NO (vasodilatador) producido localmente en las arterias. Los estrógenos parecen favorecer la vasodilatación arterial aumentando la concentración local de NO y disminuyendo la endotelina-1 (152).

El grosor íntima-media carotídeo (CIMT) es un marcador de aterosclerosis subclínica y eventos isquémicos cerebrales y coronarios. El CIMT es un marcador de aterosclerosis subclínica. Es medido a través de una ultrasonografía carotídea, siendo un método seguro, no invasivo y confiable. Numerosos estudios han demostrado que el CIMT se asocia a los factores de riesgo cardiovascular tradicionales, y se ha postulado que la progresión del CIMT es igual al resultado de la respuesta de cada persona a su propia carga de factores de riesgo, independiente de si esta carga es leve o importante, o de su duración. De esta manera, el CIMT da información directa de la progresión aterosclerótica a nivel de la pared arterial carotídea. Por otra parte, el CIMT se asocia, en forma independiente, a eventos de

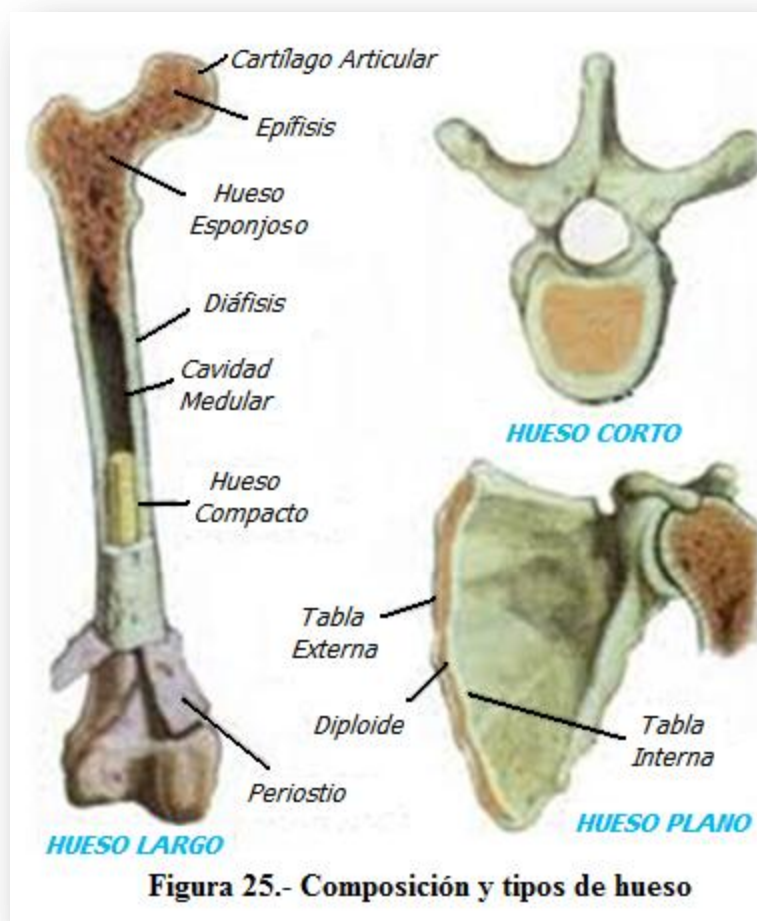
riesgo cardiovascular y cerebro vasculares, como infarto al miocardio y accidente vascular encefálico isquémico, aún después de ajustar por los factores de riesgo tradicionales. (153-161).

## 5.8. Tejido óseo

### 5.8.1 Definición

El tejido óseo es un tipo especializado del tejido conectivo, constituyente principal de los huesos en los vertebrados. Está compuesto por células y componentes extracelulares calcificados que forman la matriz ósea. Se caracteriza por su rigidez y su gran resistencia tanto a la tracción como a la compresión. La característica que distingue al tejido óseo de los otros tejidos conjuntivos es la mineralización de su matriz ósea.

El hueso tiene tres funciones principales: mecánica o de sostén, la cual permite la inserción muscular y, por ende la locomoción; de protección de órganos vitales como el cerebro, corazón y pulmones, al igual que la médula ósea, y de tipo metabólica la cual permite la homeostasis de diferentes iones principalmente calcio y fósforo (ver figura 25) (162).

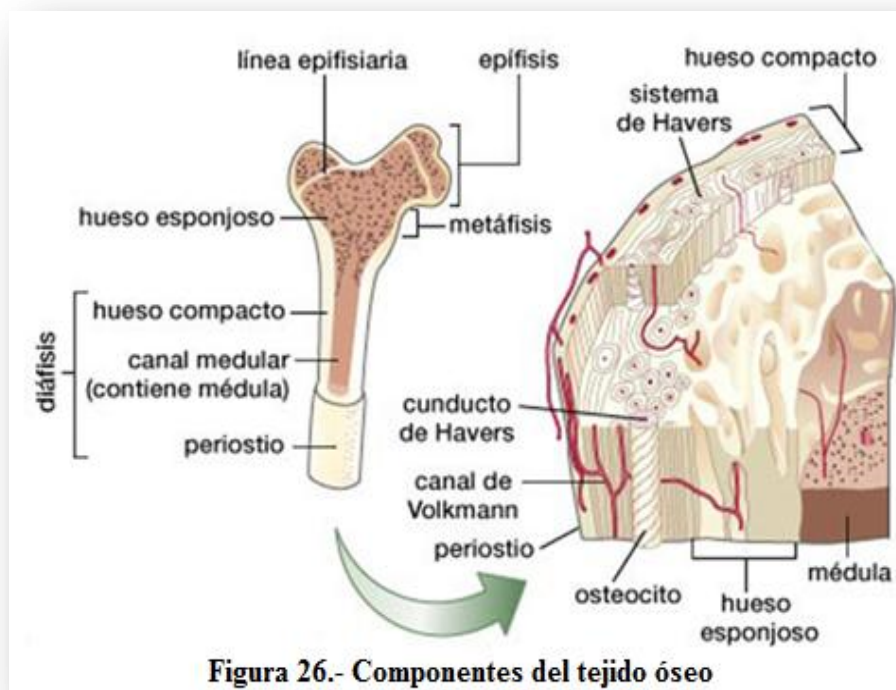


El hueso es un tejido muy activo, el cual permanentemente está eliminando tejido viejo (actividad resortiva o de remodelado) y formando tejido nuevo (actividad formativa o de modelado). El conjunto de estas actividades se conoce como recambio óseo y debe realizarse en una forma balanceada, de tal manera que a pesar de esta gran actividad metabólica, el hueso permanece con su integridad anatómica y estructural.

Para entender el funcionamiento normal del recambio óseo en lo que se refiere a la función de sostén y las enfermedades que se derivan de las alteraciones de estos mecanismos, es importante conocer la composición del hueso normal, las células involucradas en el recambio óseo, las fases de este recambio, el concepto de calidad ósea, las funciones del mecanostato, las situaciones que determinan su mal funcionamiento y el posible enfoque fisiopatológico. (163)

### 5.8.2. Composición del hueso normal

El hueso es un tejido conectivo mineralizado, compuesto por una parte no celular (material osteoide), la cual a su vez presenta dos fases (proteica y mineral), y otra celular, como se muestra en la figura 26.



El hueso está formado por tres componentes:

- ✓ Matriz orgánica u osteoide: 90% está constituido por colágeno tipo I, el resto lo componen otras proteínas como la osteocalcina, osteonectina, osteopontina.
- ✓ Matriz mineral: calcio y fósforo en forma de cristales de hidroxipatita.
- ✓ Células: entre las que destacan:

- ✓ Osteoblastos: son células mononucleares que sintetizan colágeno tipo I y otras proteínas no colágenas como la osteocalcina. Además, intervienen en el proceso de mineralización.
- ✓ Osteoclastos: son células multinucleadas secretoras de enzimas y proteasas que disuelven la matriz mineralizada y rompen la matriz orgánica.

#### 5.8.2.1. Componentes no celulares

La fase proteica está compuesta principalmente por colágeno (70% del peso seco) y el 95% de las proteínas. El colágeno es predominantemente tipo 1, el cual consiste en tres cadenas de polipéptidos dos  $\alpha 1$  y una  $\alpha 2$ , que conforman estructura en hélice.

Las otras proteínas no colágenas son la osteocalcina, de importancia en la formación de hueso nuevo, siendo su formación dependiente de las Vitaminas K y D, constituida por tres residuos  $\gamma$ -carboxiglutámicos las cuales le confieren afinidad por el calcio y capacidad reguladora durante la mineralización, es sintetizada por el osteoblasto, siendo sus niveles séricos un indicador de la actividad de estas células (actividad osteoblástica); y por el osteocito, al ser sometido a fuerzas mecánicas que estimulan la remodelación ósea. La osteonectina, actúa como un complejo con la fosfatasa ácida que une colágeno, calcio e hidroxiapatita. La fase mineral consiste en hidroxiapatita:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

#### 5.8.2.2. Componentes celulares

##### ➤ Células Osteoprogenitoras.

La célula osteoprogenitora deriva de la célula madre mesenquimática, es una célula de reposo que puede transformarse en un osteoblasto y secretar matriz ósea.

##### ➤ Osteoblastos.

Los osteoblastos son las células osteoformadoras al generar depósito activo de material osteoide. Se disponen en forma de capa epitelioide en la superficie ósea. Estas células tienen estructura poligonal y aplanada con múltiples prolongaciones en forma de huso. El núcleo se ubica en el lugar más alejado de la superficie ósea. El citoplasma es basófilo y contiene abundantes aparatos de Golgi, vacuolas citoplasmáticas con precursores de matriz ósea y abundante retículo endoplásmico rugoso, lo cual la capacita para su gran actividad de síntesis proteica. Los osteoblastos sintetizan la mayoría de las proteínas encontradas en el hueso: colágeno tipo I, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, proteoglicanos y proteínas morfogénicas del hueso. Además sintetiza fosfatasa alcalina y receptores de superficie para vitaminas, hormonas y citocinas. La osteopontina y la osteonectina se encargan de la adhesión celular.

Los osteoblastos sintetizan la mayoría de las proteínas encontradas en el hueso: colágeno tipo I, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, proteoglicanos y proteínas morfogénicas del hueso. Además sintetiza fosfatasa alcalina y receptores de superficie para vitaminas, hormonas y citocinas. La osteopontina y la osteonectina se encargan de la adhesión celular (164).

Los osteoblastos expresan también moléculas de adhesión: ICAM-1, V-CAM-1, Función de los linfocitos asociados al antígeno 3 (LFA-3), miembros de la superfamilia de las

inmunoglobulinas. Las células T tienen capacidad de adherirse a los osteoblastos, ya que poseen los ligandos de dichas moléculas de adhesión: LFA-1, VLA-4 y el CD2, respectivamente. La función de esta adhesión es la generación de señales de activación las cuales facilitan la producción de citocinas, como la IL-1 y el TNF- $\alpha$ , en el contexto de procesos inflamatorios. Estas citocinas a su vez pueden activar los osteoclastos, siendo esta una de las vías para la generación de osteopenia yuxtaarticular en procesos inflamatorios articulares como el que se presenta en artritis reumatoide. Algunos investigadores sugieren la presencia de citocinas provenientes del sistema inmune, como factor coadyuvante en desarrollo de la osteoporosis postmenopáusica (165,166).

➤ Osteocitos.

Es la célula ósea madura, y está encerrado en la matriz ósea (osteóide), que fue secretada como osteoblasto; su función es de mecano-transducción, es decir, la célula es capaz de responder a una fuerza mecánica aplicada al hueso con diferentes estímulos mecánicos. También altera la expresión genética y el mecanismo apoptótico celular.

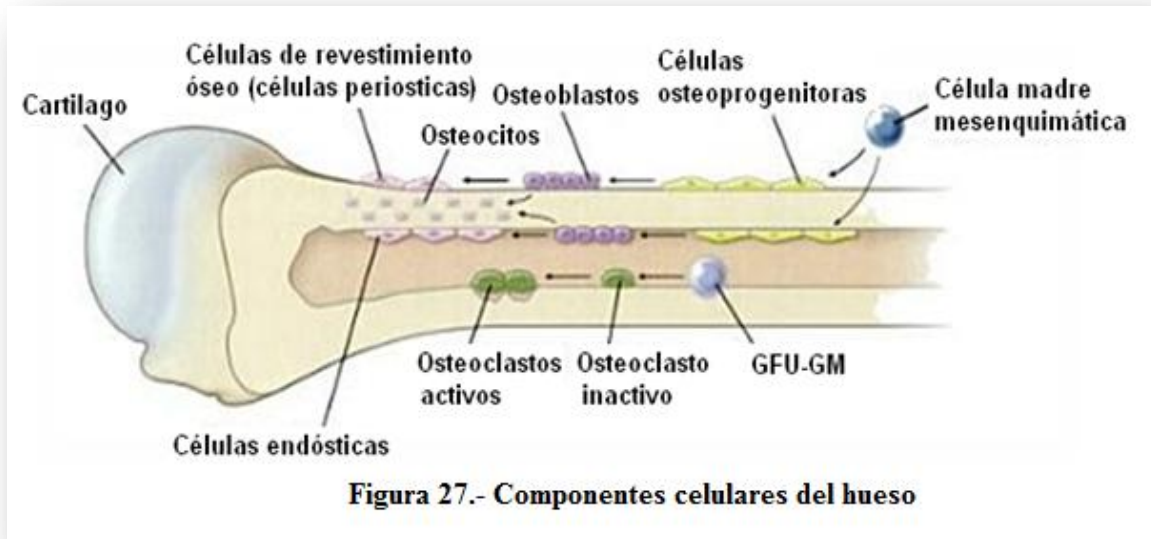
➤ Células de Revestimiento óseo.

Son células que derivan de los osteoblastos y tapizan el tejido óseo que no está remodelado. Cuando se localiza en la superficie externa son células periosticas. Y cuando tapizan la superficie interna del hueso se denominan células endósticas. Su principal función es de mantenimiento y nutrición de los osteocitos incluidos en la matriz ósea subyacente y regulando también el movimiento de calcio hacia el hueso y viceversa.

➤ Osteoclasto

Los osteoclastos son células que llevan a cabo la resorción de hueso viejo, a través de una activa digestión proteolítica. Son células grandes multinucleadas, parecidas a los macrófagos, cuyos precursores son macrófagos mononucleares (monocitos), los cuales son liberados a la sangre y captados en sitios de resorción ósea, fusionándose con otros y formando el osteoclasto. Esta célula en plena actividad forma túneles profundos en la superficie del hueso compacto, generando cavidades. Los osteoblastos tienen progenitores mesenquimatosos los cuales son llamados "unidades de formación de colonias de granulocitos y macrófagos" (CFU-GM). La diferenciación se lleva a cabo en un microambiente especial donde participan diversas hormonas, factores de crecimiento y citocinas.

Las CFU-GM evolucionan a monocito, macrófago y posteriormente a osteoclasto por la participación de IL-1, IL-3, IL-11, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, M-CSF y el factor inhibitorio leucémico (LIF). Existe sinergismo entre la IL-3 y la IL-6 para la formación de precursores de osteoclastos y el incremento de la síntesis de GM-CSF. La presencia simultánea de un aumento de la IL-6 y la IL-1 lleva a una activación osteoclástica ex vivo, en cocultivo con osteoblastos. Es evidente la interacción permanente osteoblasto-osteoclasto (ver figura 27) (167, 168).



### 5.8.3. Remodelado óseo

Los marcadores óseos bioquímicos son un reflejo de este proceso de remodelación y pueden ser medidos en sangre y en orina.

El remodelado óseo puede ser dividido en las siguientes fases (ver figura 28):

✓ Fase quiescente o de reposo:

Se dice del hueso en condiciones de reposo. Los factores que inician el proceso de remodelado aún no son conocidos.

✓ Fase de activación:

El primer fenómeno que tiene lugar es la activación de la superficie ósea previa a la reabsorción, mediante la retracción de las células limitantes (osteoblastos maduros elongados existentes en la superficie endóstica) y la digestión de la membrana endóstica por la acción de las colagenasas. Al quedar expuesta la superficie mineralizada se produce la atracción de osteoclastos circulantes procedentes de los vasos próximos (169).

✓ Fase de reabsorción o resorción:

Seguidamente, los osteoclastos comienzan a disolver la matriz mineral y a descomponer la matriz osteoide. Este proceso es acabado por los macrófagos y permite la liberación de los factores de crecimiento contenidos en la matriz, fundamentalmente TGF- $\beta$  (factor transformante del crecimiento  $\beta$ ), PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), IGF-I y II (factor análogo a la insulina I y II).



✓ Fase de formación:

Simultáneamente en las zonas reabsorbidas se produce el fenómeno de agrupamiento de preosteoblastos, atraídos por los factores de crecimiento que se liberaron de la matriz que actúan como quimiotácticos y además estimulan su proliferación (170). Los preosteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se adhiere el nuevo tejido y expresan BMPs (proteínas morfogenéticas óseas), responsables de la diferenciación. A los pocos días, los osteoblastos ya diferenciados van a sintetizar la sustancia osteoide que rellenará las zonas horadadas.

✓ Fase de mineralización:

A los 30 días del depósito de osteoide comienza la mineralización, que finalizará a los 130 días en el hueso cortical y a 90 días en la región trabecular. Y de nuevo empieza la fase quiescente o de reposo. (171)

### 5.8.3.1. Factores reguladores del remodelado óseo

El balance entre la reabsorción y la formación óseas está influido por una serie de factores, interrelacionados entre sí, como son factores genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales.

✓ Factores genéticos

Son determinantes muy importantes en el pico de masa ósea, ya que entre el 60 y el 80% de ésta se encuentra determinada genéticamente (172). Así los sujetos de raza negra poseen una masa ósea mayor que los de raza blanca y éstos mayores que la raza amarilla. La constitución ósea se transmite genéticamente, por lo que, la predisposición a padecer osteoporosis es mayor en hijas de madres que la padecen (173).

✓ Factores mecánicos

La actividad física es imprescindible para el correcto desarrollo del hueso. Se cree que la acción muscular transmite al hueso una tensión que es detectada por la red de osteocitos incluida en el interior del fluido óseo. Estos osteocitos producen mediadores como prostaglandinas, NO e IGF-I, que estimulan tanto su actividad como la de los osteoblastos y originan una mayor formación ósea. Y por el contrario, la falta de actividad muscular, el reposo o la ingravidez tienen un efecto deletéreo sobre el hueso, acelerando la reabsorción (174).

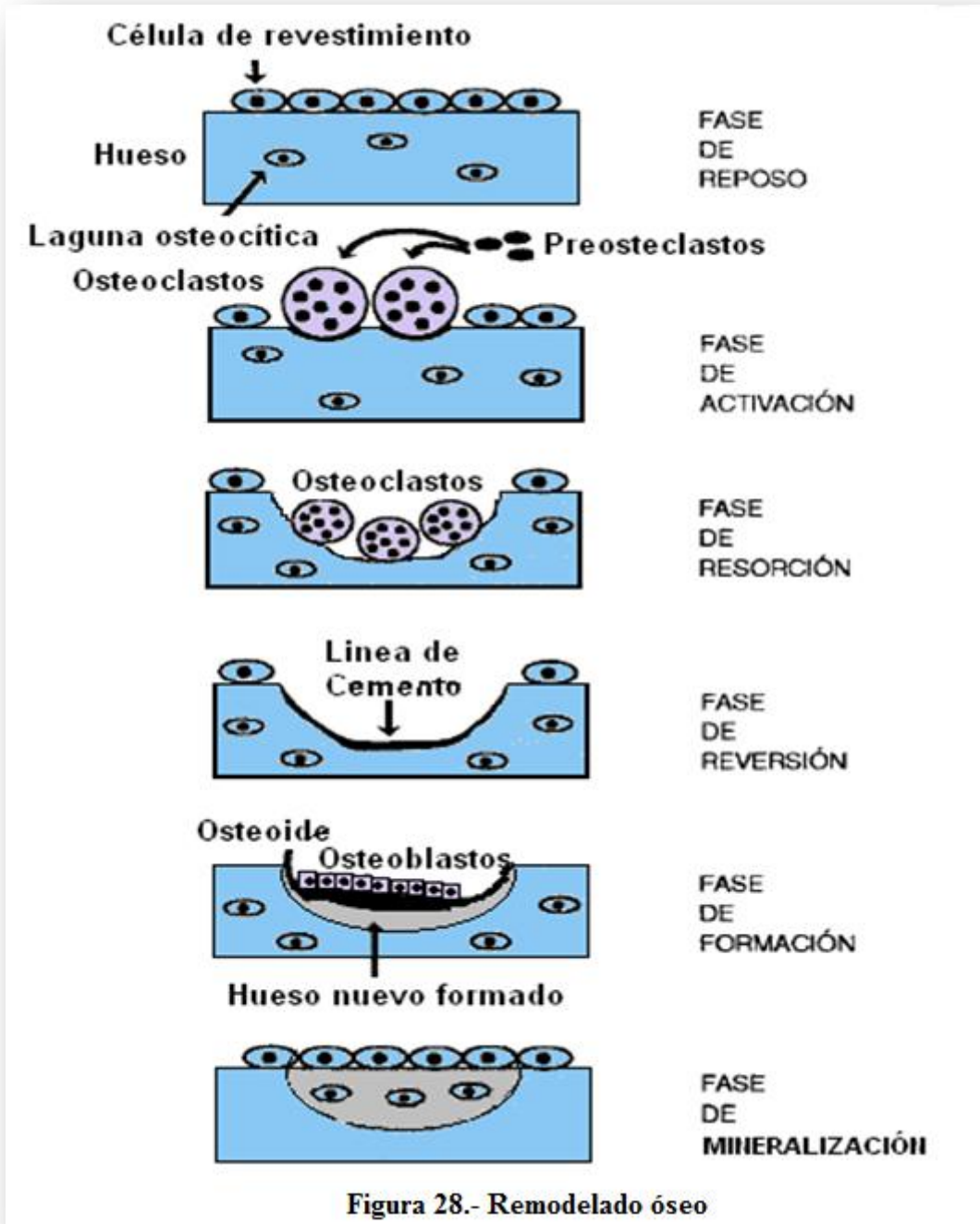


Figura 28.- Remodelado óseo

✓ Factores vasculonerviosos

Trabajos previos de Trueta y cols. 1963, (175) indican que la vascularización es fundamental para el normal desarrollo óseo, permitiendo el aporte de células sanguíneas, oxígeno, minerales, iones, glucosa, hormonas y factores de crecimiento. La vascularización constituye el primer paso para la osificación: los vasos sanguíneos invaden el cartílago y posteriormente se produce la reabsorción ósea por los osteoclastos, procedentes de los vasos próximos. Igualmente, la neoformación vascular es el primer evento en el fenómeno

de la reparación de fracturas o de la regeneración ósea, ya que la existencia de oxígeno es fundamental para que se produzca la *restitutio ad integrum* (restauración total) y no tejido fibroso. Ham, en 1952 constató este fenómeno (176), al observar que los osteocitos se mueren cuando están lejos de un capilar (la distancia máxima es de 0.1 mm).

La inervación es necesaria para el funcionamiento fisiológico normal óseo. El hueso es inervado por el sistema nervioso autónomo y por fibras nerviosas sensoriales. Se han encontrado fibras autónomas en periostio, endostio, hueso cortical y asociadas a los vasos sanguíneos de los conductos de Volkmann, así como neuropéptidos y sus receptores en el hueso. Como ejemplos de la importancia de la inervación en la fisiología ósea son la osteopenia y la fragilidad ósea presentes en pacientes con desórdenes neurológicos, así como la menor densidad mineral ósea existente en mandíbulas denervadas.

✓ Factores nutricionales

Este factor puede ser modificado. Se necesita un mínimo de calcio para permitir la mineralización que la mayoría de los autores cifran en unos 1,200mg diarios hasta los 25 años; después y hasta los 45, no debe ser inferior a 1 g y tras la menopausia debe ser por lo menos 1,500 mg al día. Así mismo, se conoce que hábitos como el consumo del tabaco, cafeína, alcohol y exceso de sal constituyen factores de riesgo para la aparición de osteopenia.

✓ Factores hormonales

El desarrollo normal del esqueleto está condicionado por el correcto funcionamiento del sistema endocrino, fundamentalmente de la hormona somatotropa (GH) y las hormonas calcitrópicas (parathormona, calcitonina y metabolitos de la vitamina D). Las hormonas son mensajeros sistémicos que actúan a distancia de su lugar de producción (efecto endocrino), pero también regulan la síntesis y acción de los factores locales, que intervienen directamente en el metabolismo celular (efectos autocrino y paracrino).

Las hormonas más importantes que intervienen en la fisiología ósea son:

✓ Calcitonina

Producida en las células C o parafoliculares del tiroides, es inhibidora de la reabsorción ósea, al reducir el número y la actividad de los osteoclastos. Sin embargo, esta acción es transitoria, ya que los osteoclastos parecen volverse "impermeables" a la calcitonina en pocos días (177).

✓ 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamina D<sub>3</sub> o calcitriol

Hormona esteroidea que favorece la absorción intestinal de calcio y fosfato y, por tanto, la mineralización ósea. Es necesaria para el crecimiento normal del esqueleto. Algunos autores piensan que puede ser producida por células linfocíticas o monocíticas del hueso, ejerciendo un papel importante como regulador local de la diferenciación de los osteoclastos (178).

✓ Andrógenos

Tienen un efecto anabolizante sobre el hueso, a través del estímulo de los receptores de los osteoblastos. Asimismo, actúan de mediadores en el pico de GH existente en la pubertad.

Mientras que la deficiencia androgénica se asocia a una menor densidad ósea, la administración de testosterona en jóvenes antes del cierre epifisario incrementa la masa ósea. Igualmente, las mujeres con exceso de andrógenos presentan densidades óseas más altas.

✓ Estrógenos

Son esenciales para el cierre de los cartílagos de conjunción y se ha descubierto que juegan un papel importante en el desarrollo esquelético tanto femenino como masculino durante la adolescencia. Los estrógenos tienen un doble efecto sobre el metabolismo óseo: por un lado favorecen la formación ósea al aumentar el número y función de los osteoblastos y por otro lado, disminuyen la reabsorción. Se han descrito receptores de estrógenos en osteoblastos, osteocitos y osteoclastos humanos. Investigaciones recientes han comprobado que los estrógenos pueden aumentar los niveles de osteoprotegerina (OPG), proteína producida por los osteoblastos que inhibe la reabsorción (179), por lo que podrían jugar un papel importante en la regulación de la osteoclastogénesis. Es por esto que la deficiencia de estrógenos durante la menopausia constituye el factor patogénico más importante de la pérdida ósea asociada a la osteoporosis.

✓ Progesterona

Es igualmente anabolizante sobre el hueso, bien directamente, a través de los osteoblastos, que poseen receptores para la hormona o bien de forma indirecta, mediante la competencia por los receptores osteoblásticos de los glucocorticoides.

✓ Insulina

Estimula la síntesis de la matriz directa e indirectamente, a través del aumento de la síntesis hepática de IGF-I.

✓ Glucocorticoides

A dosis altas tienen efectos catabólicos sobre el hueso, ya que inhiben la síntesis de IGF-I por los osteoblastos, y suprimen directamente la Proteína Morfogénica de hueso tipo 2 (BMP-2) y el Cbfa1, factores críticos para la osteoblastogénesis (180). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que a dosis fisiológicas tienen capacidad osteogénica favoreciendo la diferenciación osteoblástica (181).

✓ Hormona de crecimiento (GH)

Tiene dos acciones sobre el hueso, directa e indirecta. La GH actúa directamente sobre los osteoblastos, con receptores para la hormona, estimulando su actividad, lo que produce un aumento en la síntesis de colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina. La acción indirecta se produce a través del aumento de la síntesis de IGF-I y II por los osteoblastos. Estos factores favorecen la proliferación y diferenciación de los osteoblastos, aumentando su número y función.

Desde hace unos años se viene considerando a la GH como un factor de crecimiento local, ya que no sólo se sintetiza en la adenohipófisis, sino en casi todas las células del organismo, incluidos los osteoblastos (182), teniendo un efecto autocrino y paracrino, además de endocrino.

✓ Factores locales

El remodelado óseo también está regulado por factores locales, entre los que destacan los factores de crecimiento, las citocinas y recientemente se han implicado las proteínas de la matriz ósea, como moduladoras de la acción de otros factores locales (cuadro 8). Las células del hueso también juegan un papel importante por la producción de prostaglandinas y óxido nítrico, así como de citocinas y factores de crecimiento.

✓ Factores de crecimiento

Son polipéptidos producidos por las propias células óseas o en tejidos extra-óseos, que actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular (cuadro 8).

✓ IGF-I y II (Factor de Crecimiento ligado a la Insulina Tipo I y II)

Los factores de crecimiento análogos a la insulina son polipéptidos similares a esta hormona sintetizados por el hígado y los osteoblastos. Se hallan en gran concentración en la matriz osteoide (183). Incrementan el número y función de los osteoblastos, favoreciendo la síntesis de colágeno. Circulan unidos a proteínas de unión (IGFBP de IGF-binding proteins) que a su vez pueden ejercer efectos estimulatorios o inhibitorios sobre el hueso. Los IGFs están regulados por hormonas y factores de crecimiento locales; así la GH, los estrógenos y la progesterona aumentan su producción, mientras que los glucocorticoides la inhiben. Asimismo, median en la interacción osteoblasto-osteoclasto e intervienen de forma activa en el remodelado óseo (184). El IGF-II es el factor de crecimiento más abundante de la matriz ósea, es importante durante la embriogénesis, pero sus efectos sobre el esqueleto ya desarrollado actualmente se desconocen (185).

**Cuadro 8 - Factores locales reguladores del remodelado óseo**

	Estimulan formación	Estimulan reabsorción	Inhiben reabsorción
<b>Factores de crecimiento</b>	BMP-2 (Proteína morfogenética ósea-2) BMP-4 (Proteína morfogenética ósea-4) BMP-6 (Proteína morfogenética ósea-6) BMP-7 (Proteína morfogenética ósea-7) IGF-I (factor análogo a la insulina I) IGF-II (Factor análogo a la insulina II) TGF- $\beta$ (Factor transformante del crecimiento $\beta$ ) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial)	TNF (Factor de necrosis tumoral) EGF (Factor de crecimiento epidérmico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos) GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos)	
<b>Citoquinas</b>		IL-1 (Interleuquina -1) IL-6 (Interleuquina -6) IL-8 (Interleuquina -8) IL-11 (Interleuquina -11) PGE <sub>2</sub> (Prostaglandina E-2) PGE <sub>1</sub> (Prostaglandina E-1) PGG <sub>2</sub> (Prostaglandina G-2) PGI <sub>1</sub> (Prostaglandina I-2) PGH <sub>2</sub> (Prostaglandina H-2)	IFN- $\gamma$ (Interferón $\gamma$ ) IL-4 (Interleuquina-4)

#### 5.8.4. Marcadores bioquímicos del metabolismo óseo

Los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo son interesantes desde un punto de vista clínico para evaluar el proceso de remodelado. Así hay marcadores de formación ósea, como la fosfatasa alcalina, osteocalcina y procolágeno tipo I (PICP) y marcadores de reabsorción, tales como la hidroxiprolinuria y la fosfatasa ácida resistente a tartrato. De los 11 marcadores bioquímicos más frecuentemente usados para medir la formación y reabsorción óseas, 9 son proteínas de la matriz extracelular (186). Los marcadores de osteoformación son productos de los osteoblastos en diferentes estadios de diferenciación (186) (cuadro 9).

**Cuadro 9.- Marcadores del metabolismo óseo**

	FORMACIÓN	REABSORCIÓN
PLASMA	<p>OCN: específica de hueso y dentina (tejidos mineralizados). Es sintetizada por los osteoblastos y liberada en pequeñas concentraciones a la circulación. Es vitamina K y D dependiente. Cuando aumenta, indica un aumento del turn-over óseo.</p> <p>PICP: poca sensibilidad. Se libera en una proporción de 1 a 1 a la circulación.</p> <p>ALP: poca sensibilidad y especificidad en osteoporosis.</p> <p>Calcio/Creatinina</p>	<p>TRAP: Poca especificidad.</p> <p>ICTP</p>
ORINA		<p>Calcio</p> <p>Hidroxirolina: poca sensibilidad (hidroxirolina también procede de la dieta). Buen marcador en situaciones de reabsorción exagerada, por ejemplo en la enfermedad de Paget.</p> <p>Hidroxisilina: mejor marcador que el anterior.</p> <p>Piridolinas: el más prometedor marcador de reabsorción. En el hueso humano hay una proporción de 3 a 1 de piridolinas respecto a deoxipiridinolinas. Se liberan por la orina en un 40% de forma libre y un 60% unidos a proteínas plasmáticas. Son el marcador más sensible. Son específicos para el turn-over óseo y se correlaciona con la pérdida de masa ósea en la osteoporosis.</p> <p>INTP</p>

Osteocalcina; PICP: Propéptido carboxiterminal del procolágeno I; ALP: Fosfatasa alcalina; TRAP: Fosfatasa ácida tartrato resistente; ICTP: Telopéptido carboxiterminal del procolágeno I; INTP: Telopéptido aminoterminal del procolágeno I

#### 5.8.4.1. Marcadores de formación ósea

Todos son proteínas sintetizadas por los osteoblastos.

##### ✓ Fosfatasa alcalina ósea

Los osteoblastos son ricos en FA ósea. Es una de las isoenzimas de la fosfatasa alcalina. Junto con la hepática intestinal y placentaria forman la fosfatasa alcalina total.

Se eleva en la infancia y adolescencia (debido al crecimiento), en las fracturas óseas, en la enfermedad maligna ósea (primaria o metastásica), el hiperparatirodismo primario y secundario y la Enfermedad de Paget del hueso.

##### ✓ Osteocalcina

Es la mayor proteína no colágena del hueso. Su concentración en suero refleja la actividad osteoblástica. Además del hueso, también se encuentra en la dentina. Su incremento en el suero se asocia a la mineralización del hueso pero las concentraciones no son siempre paralelas a las de la fosfatasa alcalina ósea. La disminución del aclaramiento renal puede elevar las concentraciones séricas de osteocalcina.

La osteocalcina en sangre está presente en muy variadas formas que derivan de la fragmentación de la molécula intacta. Debido a la heterogeneidad de los anticuerpos usados

en la medida de la osteocalcina y su diferente interacción con los múltiples fragmentos, los valores obtenidos con distintos kits comerciales no pueden ser comparados entre sí.

La OCN aumenta durante el crecimiento, en el hiperparatirodismo primario y secundario, en el hipertirodismo y en la insuficiencia renal. Disminuye en el hipotirodismo y en el tratamiento con corticoides.

✓ Propéptidocarboxiterminal de procolágeno tipo I (PICP)

El procolágeno I es una molécula precursora del colágeno tipo I. Su cuantificación da una idea de la velocidad de síntesis del colágeno tipo I.

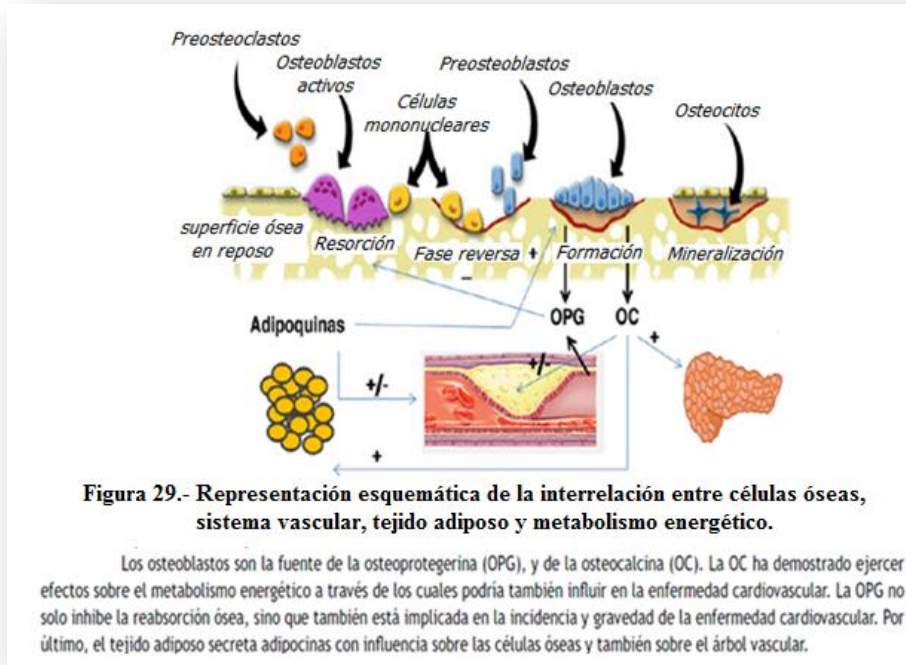
Cualquier tejido que sintetiza colágeno tipo I (hueso, piel) libera propéptidos lo que hace a este marcador menos específico que la osteocalcina o la fosfatasa alcalina ósea. Aumenta en la enfermedad de Paget del hueso y la menopausia. Disminuye en los tratamientos con estrógenos, con bifosfanatos o calcitonina (188).

La relación entre baja masa ósea, fracturas y mortalidad cardiovascular está bien documentada. En mujeres con baja masa ósea existe un aumento de la mortalidad cardiovascular que oscila entre un 22 y un 40% por cada descenso de una desviación estándar (DE) de la densidad mineral ósea (DMO) (189, 190) y en varones por cada aumento de una DE en la DMO de cadera disminuye un 24% la mortalidad cardiovascular (191). Además, los casos de fallecimiento por enfermedad cardiovascular son un 30% más frecuente en mujeres con fractura vertebral (192).

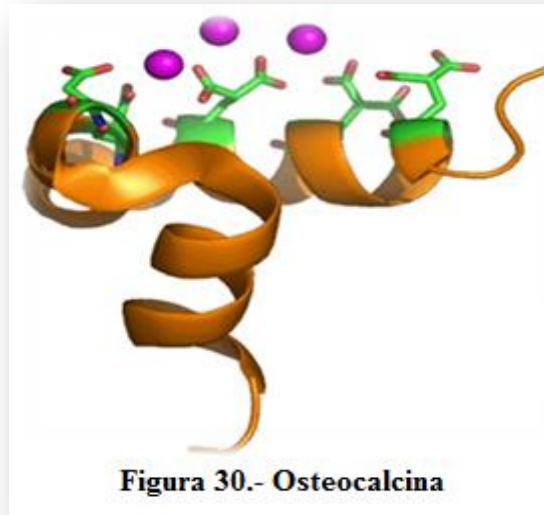
Existe una interrelación entre los marcadores de arterioesclerosis y la enfermedad ósea. Así, la mayoría de los estudios transversales han descrito una asociación inversa entre la presencia, la intensidad y la progresión de la calcificación a nivel de aorta abdominal y la masa ósea a nivel lumbar y femoral, tanto en mujeres posmenopáusicas como en varones. Además, la calcificación aórtica se asocia un mayor riesgo de fractura de cadera en mujeres posmenopáusicas. La ateromatosis carotídea, otro marcador de enfermedad cardiovascular, se ha asociado con una menor masa ósea en mujeres posmenopáusicas y con un aumento del riesgo de fractura no vertebral. De forma análoga, la presencia de fractura vertebral se asocia a un mayor riesgo de presentar placa carotídea en mujeres posmenopáusicas con DMO y la pérdida de masa ósea medida en metacarpo está asociada con la progresión de la arterioesclerosis aórtica en mujeres (193-197).

La osteoprotegerina (OPG) es una proteína de la familia de los TNF que regula el proceso de osteoclastogénesis a través de la inhibición de RANKL, receptor activador del factor nuclear kappaB. El sistema OPG/RANKL es un factor crítico que determina el grado de activación de los osteoclastos y, por lo tanto, el grado de destrucción ósea. La OPG es secretada por los osteoblastos o células osteoformadoras y también por células vasculares entre ellas células endoteliales y células musculares de las arterias coronarias (ver figura 29). Datos recientes sugieren que la OPG puede ser un factor importante regulador de la calcificación arterial y que puede constituir un indicador de lesión vascular. Además, la relación que existe entre mayores concentraciones de OPG y una mayor incidencia y mortalidad por enfermedad cardiovascular se ha confirmado en distintas poblaciones de estudio (198).





### 5.8.5. Osteocalcina



#### 5.8.5.1. Generalidades

La osteocalcina es una proteína dependiente de la vitamina K con un peso molecular de aproximadamente 5800 Daltons. La proteína ha sido implicada como una Proteína GLA Ósea (BGP), debido a los residuos de ácido 3-γ-carboxiglutámico (GLA) en su estructura primaria los cuales están implicados en la unión de calcio e hidroxapatita. La osteocalcina es una de las proteínas no colágenas más abundantes del hueso y constituyen hasta el 3% de la proteína ósea total. Se piensa que osteocalcina funciona en la formación del tejido

óseo a medida que es producida por los osteoblastos, las células necesarias para este proceso. Además la osteocalcina está directamente influenciada por las hormonas reguladoras de calcio (calcitonina, hormona paratiroidea, vitamina D) que son necesarias en la mineralización normal del hueso. Los niveles de osteocalcina pueden encontrarse elevados en distintas enfermedades incluyendo la osteomalacia, la enfermedad ósea de Paget, el hipertiroidismo, el hiperparatiroidismo primario y la osteodistrofia renal; también se encuentran elevados los niveles de osteocalcina en la osteoporosis postmenopáusica debido a un incremento o disminución del metabolismo óseo. Se han informado niveles deprimidos de osteocalcina en el hipoparatiroidismo y durante con el tratamiento prolongado con corticoesteroides.

#### 5.8.5.2. Niveles séricos

Existe variación diurna entre las 4am y 5 am, el 15%, de la extracción de sangre ideal es de 8am – 11am. Se eleva en un 20% en la fase lútea.

Osteocalcina intacta:

Hombres: 11.1 –32.2 ng/mL

Mujeres: 3.8- 30 ng/mL

Osteocalcina N-MidFragment (ECLIA):

Hombres: 11-46 ng/mL

Mujeres:

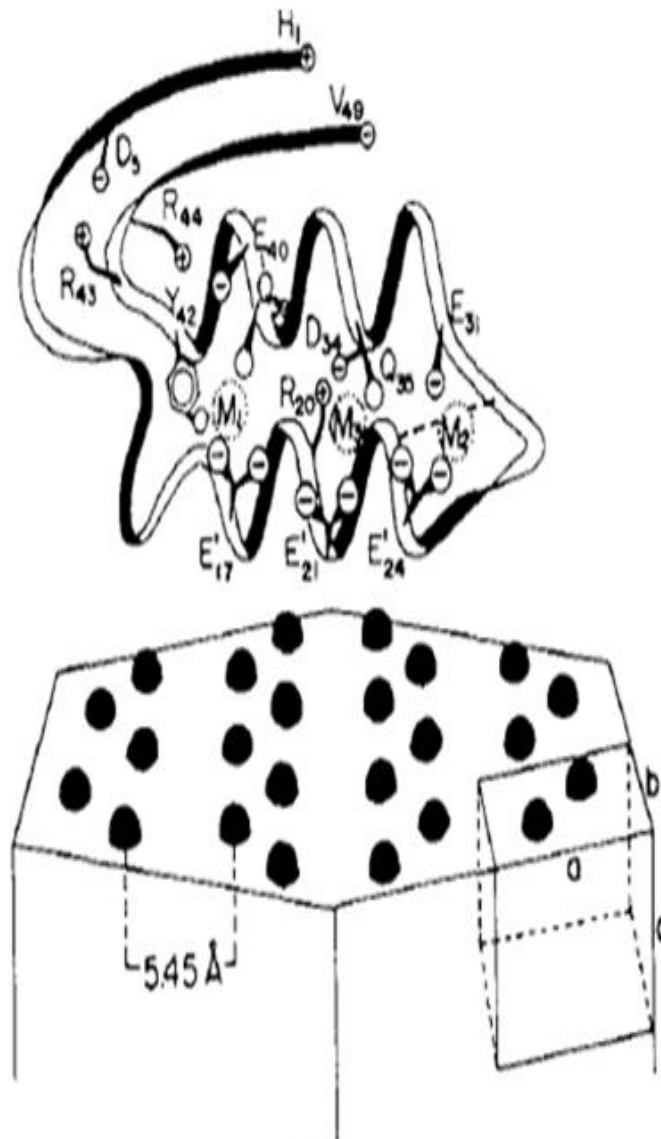
Premenopausia: 12-41 ng/mL

Post menopausia: 20-48 ng/mL (sin terapia hormonal)

La osteocalcina contiene entre 46 y 50 aminoácidos (Masa molecular = 5210 Da-5889 Da) dependiendo de las especies. La BGP procedente de hueso humano tiene 49 aminoácidos en una única cadena polipeptídica y una masa molecular de 5800 Da (199).

Una característica común es la localización de tres residuos Gla en las posiciones 17, 21 y 24. Esto ocurre en la mayoría de las especies, pero en humanos recientemente se ha demostrado que existe una  $\gamma$ -carboxilación incompleta (200), siendo la posición 17 la que posee menor porcentaje de  $\gamma$ -carboxilación.

Otra característica es la existencia de un puente disulfuro entre los residuos de Cys de las posiciones 23 y 29. Es interesante destacar que la zona amino-terminal (N-terminal) de la BGP es la que muestra mayor variabilidad entre las distintas especies, en contraste con la gran homología de la zona central de la molécula, donde están situados los residuos Gla. La característica más notable de los dominios en  $\alpha$ -hélice es la periodicidad de los aminoácidos, cargados e hidrofóbicos, a intervalos de tres o cuatro residuos (ejemplo: Gla-17, Gla-21 y Gla-24). Esto junto con los 3.6 residuos por vuelta de la  $\alpha$ -hélice, crea hélices anfipáticas con superficies aniónicas e hidrofóbicas distintas. La periodicidad de la  $\alpha$ -hélice de 5.4 Å, es similar a la distancia interatómica de los iones de  $\text{Ca}^{2+}$  en el hidroxapatita del hueso (201). Esta característica estructural de la BGP es muy significativa, ya que debe determinar su interacción con iones metálicos, hidroxapatita y otras fases sólidas de fosfato cálcico (ver figura 31).



**Figura 31.- Estructura de la osteocalcina inducida por  $\text{Ca}^{2+}$  y su posible interacción con el  $\text{Ca}^{2+}$  del cristal de hidroxiapatita.**

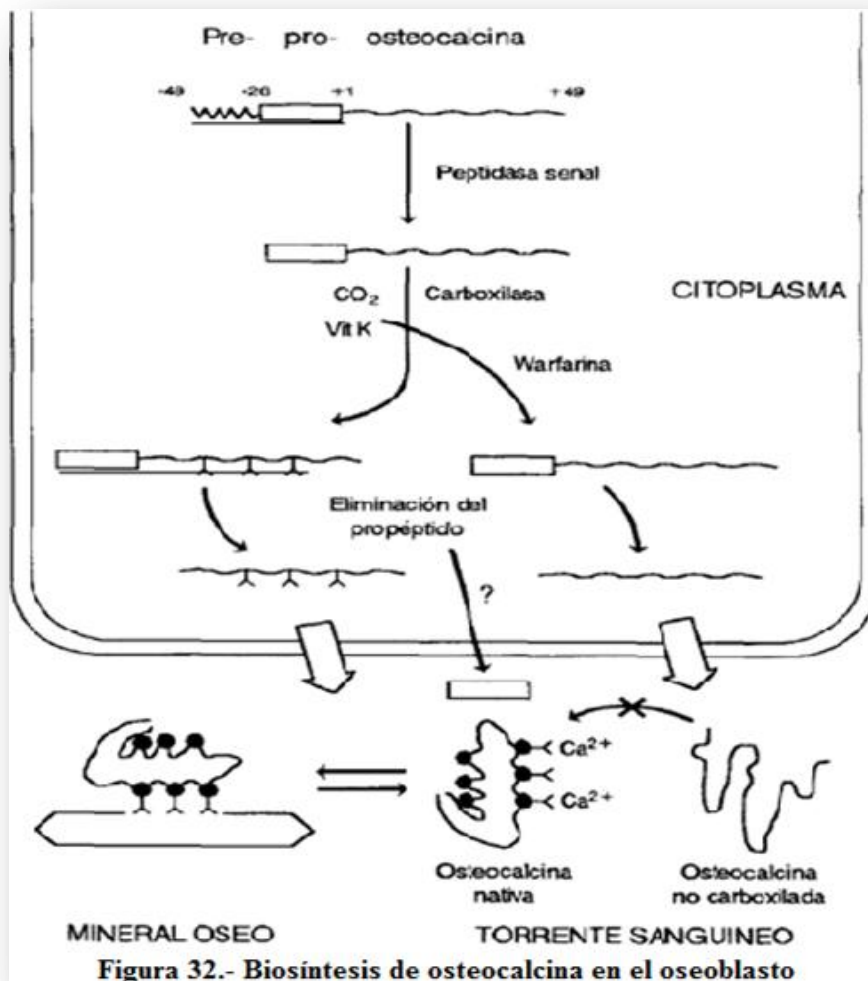
La periodicidad de los tres residuos de ácido gama-carboxiglutamico (E') en la osteocalcina es similar a la distancia interatómica de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  (5.45 Å) de la hidroxiapatita del hueso

#### 5.8.5.3. Síntesis de la osteocalcina.

La BGP se encuentra casi exclusivamente en la matriz ósea y es sintetizada por el osteoblasto, célula formadora de hueso (202, 203) y por el odontoblasto (204), célula formadora de dentina. Además, se ha demostrado recientemente la presencia de ARNm para BGP en megacariocitos y plaquetas de rata y de humano, no siendo detectables los

*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

niveles de BGP al ser medidos por un radioinmunoensayo (RIA) en el extracto de estas células (205). Aquí su papel fisiológico es desconocido. También se ha encontrado expresión basal baja de ARNm para BGP, unas mil veces menos que en el tejido óseo, en diversos tejidos blandos (hígado, riñón, pulmón, cerebro, músculo) procedentes de rata, pudiendo estar implicada en las calcificaciones patológicas de estos tejidos. Además se ha encontrado mayor cantidad de ARNm en aorta humana calcificada (206), hecho ya descrito anteriormente en el caso de calcificaciones ectópicas (207). A pesar de haber encontrado expresión de ARNm para BGP en otros tejidos distintos al hueso, este órgano sigue siendo el principal productor de esta proteína, y por tanto puede ser considerada específica de actividad osteoblástica. La región hidrofóbica dirige a la proteína para su procesamiento en el lumen del retículo endoplásmico y la región pro, que es homóloga a las regiones correspondientes en los factores de coagulación sanguínea dependientes de vitamina K, contiene los sitios de reconocimiento de la  $\gamma$ -carboxilación (208). Después de que la región hidrofóbica es eliminada por una peptidasa señal, la pro-BGP sufre la  $\gamma$ -carboxilación. Posteriormente el propéptido es eliminado y la proteína madura secretada al exterior de la célula. La mayor parte de esta proteína se une a la matriz ósea mineralizada y el resto pasa a la circulación, pudiendo ser detectada en el suero por RIA (ver figura 31) (209,210).



**Figura 32.- Biosíntesis de osteocalcina en el osteoblasto**

## 5.9. Tratamiento de síndrome metabólico

La mejor forma de comenzar a manejar esta condición es aumentando la actividad física y bajando de peso. Se pueden utilizar medicamentos para tratar los factores de riesgo, tales como la HTA o un nivel elevado de glucosa en sangre.

Los pacientes con SM y HTA, dislipidemia y/o diabetes deben ser tratados de acuerdo con lo que corresponda a cada una de estas condiciones. Un análisis detallado del tratamiento de todos los componentes del SM excede los objetivos de esta tesis.

## 6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

---

¿En mujeres posmenopáusicas con SM que presentan alteraciones en los niveles de PAI-1 y Osteocalcina, existe un incremento elevado de factores de riesgo cardiovascular?

## 7. HIPÓTESIS

---

Las mujeres posmenopáusicas con SM y alteraciones en los niveles séricos de PAI-1 y osteocalcina presentan mayor riesgo cardiovascular.

## **8. OBJETIVOS**

---

### 8.1. Objetivo general

- Asociar las concentraciones séricas de PAI-1 y osteocalcina en una población de mujeres menopáusicas sin síndrome metabólico y con síndrome metabólico para establecer riesgo cardiovascular.

### 8.2. Objetivos particulares

- Tomar medidas antropométricas (talla, peso, índice de masa corporal (IMC) circunferencia de cintura, cadera, cuello y tensión arterial (TA)).
- Realizar determinaciones bioquímicas de glucosa, hemoglobina glucosilada, colesterol, triglicéridos, colesterol-HDL y colesterol-LDL.
- Clasificar a las pacientes con síndrome metabólico de acuerdo con los criterios de la IDF.
- Determinar concentraciones séricas de PAI-1 y osteocalcina en pacientes sin síndrome metabólico y con síndrome metabólico.
- Evaluar el riesgo cardiovascular en una población de mujeres posmenopáusicas sin síndrome metabólico y con síndrome metabólico.

## **9. JUSTIFICACIÓN**

---

La obesidad en México es un problema de salud pública, debido a la asociación de ésta, con enfermedades crónicas degenerativas, el riesgo cardiovascular, hipertensión arterial DM2 y dislipidemias. La incidencia del SM aumenta considerablemente debido a que la obesidad es el principal componente; en mujeres se ha observado que aumenta el riesgo de presentar SM durante la menopausia y perimenopausia. El riesgo se ve incrementado en gran medida al déficit de estrógenos en esta etapa. La menopausia está asociada a múltiples alteraciones metabólicas, como lo son las lipoproteínas, la acción de la insulina sobre el metabolismo de carbohidratos, distribución de la grasa corporal, factores de la coagulación y función vascular. La obesidad central que se predomina en esta etapa, ha sido asociada con eventos aterotrombóticos. Entre los hallazgos característicos de esta asociación se encuentran la elevación del PAI-1, que se produce de manera predominante en los adipocitos viscerales, y se correlacionan con los eventos tromboticos y cardiovasculares. Por todo lo antes mencionado, y debido a que existe pocos estudios sobre la asociación de PAI-1, osteocalcina y SM en población mexicana en mujeres menopáusicas. Este trabajo puede contribuir al mejor entendimiento de la patología y de esta manera realizar medidas preventivas en este grupo etario para evitar complicaciones y secuelas posteriores.



## 10. MATERIAL Y MÉTODOS

---

### 10.1. Lugar donde se realizó el estudio.

- ✓ Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### 10.2. Diseño de investigación

Transversal, comparativo, descriptivo y observacional

### 10.3. Universo de trabajo

81 mujeres posmenopáusicas con un rango de edad de 45-65 años que acudan a la consulta de la unidad de investigación de enfermedades endocrinas del Hospital de Especialidades, CMN S. XXI

- a) Mujeres en etapa posmenopáusica con SM que acudan al Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- b) Mujeres en etapa posmenopáusica sin SM que deseen participar.

#### 10.3.1. Grupos de estudio

Se conformaron 2 grupos de estudio: sin SM y con SM. Para clasificar a las pacientes con SM se basó en los criterios de acuerdo a las definiciones para la práctica clínica de la Federación Internacional de Diabetes del Consenso del 2006.

Obesidad central (definida por una circunferencia de la cintura  $\geq 80$  cm. en mujeres).

Además de dos de los siguientes componentes:

1. Incremento en las concentraciones de triglicéridos ( $\geq 150$ mg/dL)
2. Disminución del colesterol HDL:  $\leq 50$  mg/dL en mujeres
3. Incremento de presión arterial (presión sistólica  $\geq 130$ mmHg o presión diastólica  $> 85$ mmHg), o tratamiento o diagnóstico previo de hipertensión.

##### 10.3.1.1. Criterios de inclusión

- Tener un rango de edad de entre 45-65 años
- Pacientes sanas posmenopáusicas
- Con diagnóstico de SM

#### 10.3.1.2. Criterios de exclusión

- Pacientes con alteraciones metabólicas o con diagnóstico establecido de DM2
- Terapia con anticoagulantes
- Pacientes que tengan un dispositivo electrónico (marcapasos)
- Antecedentes de infarto o trombosis previas

#### 10.3.1.3. Criterios de eliminación

- Pacientes que decidan salir del estudio
- Que no acudan a control
- Que no cuenten con expediente completo

#### 10.4. Variables

##### 10.4.1. Independiente

Presencia y ausencia de SM

##### 10.4.2. Dependientes

PAI-1, Osteocalcina, colesterol, triglicéridos, IMC y glucosa

#### 10.5. Descripción general del estudio

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y comparativo en pacientes de la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. El grupo de pacientes se integra por 81 mujeres con rango de edad de 45 a 65 años, sin SM y con SM de acuerdo a las definiciones para la práctica clínica de la Federación Internacional de Diabetes del Consenso del 2006. Las pacientes con DM2, insuficiencia renal y hepática, infecciones crónicas, endocrinopatías, enfermedades hematológicas, historia previa de enfermedad cardiovascular, trombosis, fueron excluidos del estudio. Además de los sujetos que se encuentren en tratamiento con hipolipemiantes, anticoagulantes, hipoglucemiantes orales y antioxidantes.

Este protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Mexicano del Seguro Social. Las voluntarias fueron completamente informadas y firmaron la carta de consentimiento correspondiente (**Anexo 1**).



### 10.5.1. Evaluación clínica y antropométrica

Se realizó una historia clínica completa y tomaron sus medidas antropométricas (**Anexo 2**). A todas las pacientes se les pesó y midió sin zapatos y con ropa ligera en una báscula y estadímetro (Bame).

Las pacientes se colocan en la báscula de manera erguida y sin zapatos para poder medir su estatura en cm y el peso en Kg (Nivelando la báscula adecuadamente para no tener variaciones), posteriormente se midió la cadera, cintura y perímetro del cuello, utilizando una cinta métrica, para medir la cintura se tomo como referencia la altura del ombligo, pidiendo a la paciente que se levantara la ropa en dicha zona, y se mantuviera de forma erguida para evitar interferencias en cuanto a la postura.

Para medir el perímetro del cuello, al paciente se le indica que se levante el cabello (en caso de tener cabello largo), y permanezca quieta y erguida.

La medición de cadera se realiza tomando en consideración las crestas iliacas como punto de referencia para poder colocar la cinta métrica y realizar la medición.

Se determinó la tensión arterial sistólica y diastólica con Baumanómetro Elite de Aneroido Modelo BA200ER de la siguiente manera:

- Coloque el brazo izquierdo si es diestro y viceversa a la altura del corazón, apoyándolo en una mesa o el brazo del sillón.
- Ponga el manguito alrededor del brazo desnudo, entre el hombro y el codo.
- Identifique y palpe el latido del "pulso braquial" producido por la arteria del brazo (se localiza a dos centímetros por encima del pliegue del codo, en la cara interna del brazo).
- Sobre este latido, apoye la campana del estetoscopio.
- Identifique y palpe el latido del pulso radial (pulso localizado a la altura de la muñeca cercano al borde correspondiente al dedo pulgar) en el mismo brazo que realizará la medición.
- Bombee la pera con rapidez hasta que la presión alcance 30 mm Hg más de la máxima esperada o bien lo que es más certero, 30 mm Hg por encima del momento en que desapareció el pulso radial que estábamos palpando (esto



ocurre porque al comprimirse el brazo, se comprime la arteria y desaparece el pulso.

- Desinfe el manguito lentamente observando la escala del tensiómetro, haciendo que la presión disminuya 2 a 3 mm Hg por segundo.
- En el momento que escuche (ausculte) el primer latido, deberá observar el nivel que registra la aguja (menisco en el caso del tensiómetro de mercurio). Ese valor registrado corresponderá a la Presión Arterial Máxima (Sistólica) cuyo valor no deberá ser mayor a 139 mm de Mercurio (mmHg).
- A partir de ese momento seguiremos desinflando el manguito e iremos escuchando los latidos que primero crecen en intensidad y luego decrecen.
- En el determinado momento en que dejamos de oír los latidos, realizaremos una nueva lectura sobre la escala del tensiómetro y en ese momento estableceremos la Presión Arterial Mínima (Diastólica), la que no deberá superar los 89 mmHg.

El IMC fue calculado con el peso (en Kg.) dividido entre la talla (en m<sup>2</sup>), cuadro 10.

#### 10.6. Manejo y atención del paciente

Los estudios que se realizaron a las pacientes son:

- ✓ Bioquímica clínica (glucosa, hemoglobina glucosilada, colesterol, triglicéridos, colesterol-HDL y colesterol-LDL)
- ✓ Pruebas selectivas: PAI-1 (ELISA), OCN (Quimioluminiscencia).

Se debe indicar al paciente las condiciones en las cuales es necesario presentarse a la toma de muestra para el protocolo, Las cuales son:

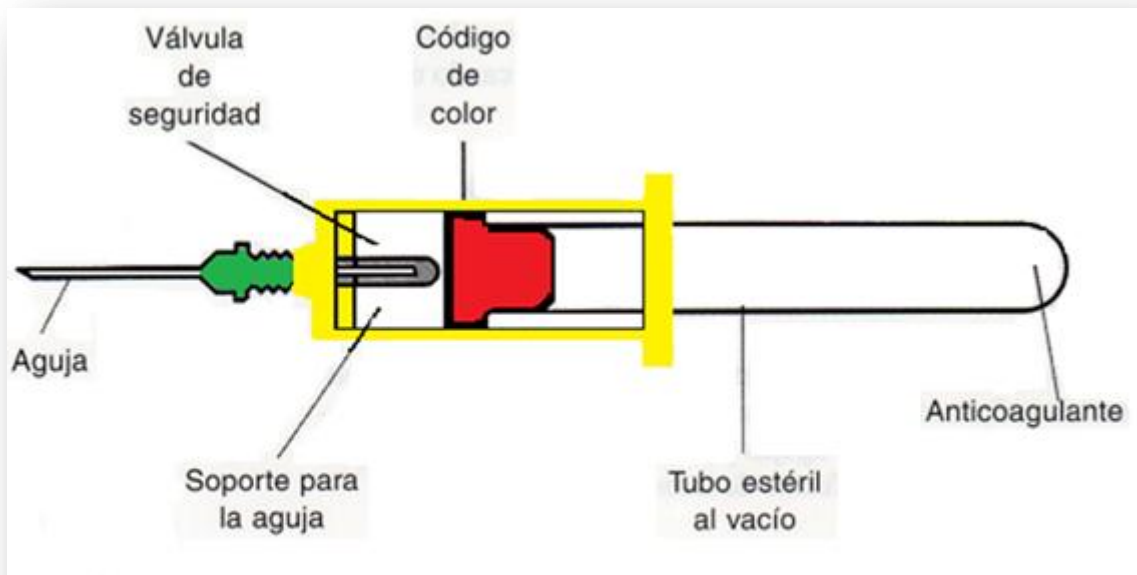
- Ayuno no mayor de 8-10hrs
- No haber ingerido café y/o bebidas alcohólicas la noche anterior
- Presentarse con ropa cómoda, sin medias, ni joyas o accesorios metálicos.

No llevar talco en cualquier parte del cuerpo, ni maquillaje.

<b>Cuadro 10.- Escala de grados de obesidad de la OMS</b>			
<b>Clasificación</b>		<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	
		<b>Valores principales</b>	<b>Valores adicionales</b>
<b>Bajo peso</b>		<b>&lt;18,50</b>	<b>&lt;18,50</b>
Delgadez severa		<16,00	<16,00
Delgadez moderada		16,00 - 16,99	16,00 - 16,99
Delgadez aceptable		17,00 - 18,49	17,00 - 18,49
<b>Normal</b>		<b>18,50 - 24,99</b>	<b>18,50 - 22,99</b>
			<b>23,00 - 24,99</b>
<b>Sobrepeso</b>		<b>≥25,00</b>	<b>≥25,00</b>
Pre-obeso		25,00 - 29,99	25,00 - 27,49
			27,50 - 29,99
<b>Obeso</b>	<b>Tipo de obesidad</b>	<b>≥30,00</b>	<b>≥30,00</b>
Obeso	Tipo I	30,00 - 34,99	30,00 - 32,49
			32,50 - 34,99
Obesidad	Tipo II	35,00 - 39,99	35,00 - 37,49
			37,50 - 39,99
Obesidad mórbida	Tipo III	40,00 - 49,99	40,00 - 49,99
Obesidad Extrema	Tipo IV	≥50,00	≥50,00

#### 10.6.1. Toma de muestra

La toma de muestra se realizó en un horario de entre las 7am y las 8:30am. Se utilizó un sistema de toma múltiple (ver figura 33), para la recolección de muestra sanguínea, requerida para los diferentes estudios a realizar (glucosa, hemoglobina glucosilada, colesterol, triglicéridos, colesterol-HDL y colesterol-LDL y las concentraciones séricas de PAI-1 y osteocalcina en pacientes sin SM y con SM).



**Figura 33.- Sistema BD Vacutainer<sup>MR</sup> de toma múltiple**

Se recolectaron 6 tubos con muestra sanguínea, se dividieron en tres pares de los cuales eran dos tubos sin anticoagulante (tapón rojo), dos tubo con anticoagulante EDTA (tapón lila) y dos tubos con anticoagulante Citrato de sodio (tapón azul) (Fig. 34).



**Figura 34.- Código de color en tubos**

- En los tubos de tapón rojo esperar alrededor de 15min, para la formación del trombo y poder centrifugarlo para la extracción de suero.
- Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 min. (Hit Lab Centrifuge CK-6V)
- Los sueros y plasmas obtenidos se vertieron en tubos Eppendorf (rotulados adecuadamente con el folio del paciente y con diferente color para su fácil identificación (de rojo para sueros, negro para plasma con EDTA, y azul para plasma con Citrato de sodio).
- Los tubos con Citrato de sodio, para la determinación de PAI-1 fueron manipulados de la siguiente forma:
  - Debe ser el segundo tubo al momento de la toma de muestra
  - Después del llenado prefijado con muestra sanguínea, se hace un proceso de enfriamiento de 2 - 4°C, hasta la separación del plasma, contenida en tubos eppendorf para su almacenamiento; se somete a congelación de -70°C; hasta la determinación requerida.
- Los tubos son almacenados en un frigorífico (REVCO) a -70°C hasta su posterior manipulación.
- Las determinaciones bioquímicas se describen más adelante con su respectivo fundamento.

#### 10.6.2. Análisis corporal

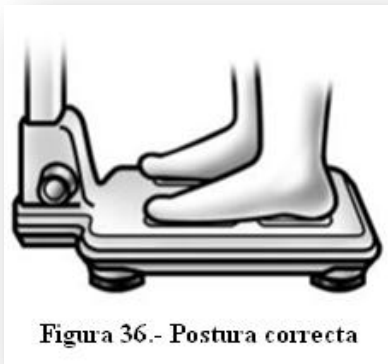
Se realizó el análisis corporal con un Analizador de Composición Corporal ioi353 JAWON (ver figura 35), el equipo mide la impedancia a través del Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA), el método BIA es la forma de analizar la composición corporal por medio de la resistencia generada por el cuerpo cuando una corriente no dañina pasa a través del mismo; por lo que es necesario hidratar a las pacientes con una medio litro de agua y esperar media hora antes de realizar el estudio, para que el cuerpo esté totalmente hidratado y poder realizar el análisis.



**Figura 35.- Analizador de Composición Corporal ioi 353 JAWON**

Indicaciones proporcionadas por el operador del equipo:

- ✓ Despojarse de accesorios metálicos (reloj, aretes, pulseras, anillos, cinturón, celular, gargantillas, lentes)
- ✓ Retirar zapatos y calcetines
- ✓ Pararse sobre las placas metálicas del equipo de manera erguida, mientras se realiza el análisis (ver figura 36)



**Figura 36.- Postura correcta**

- ✓ Con las palmas de las manos y dedos levantar los electrodos, y en una postura recta formar un ángulo de 30° con los electrodos. (ver figura 37 y 38)





**Figura 37.- Sujeción de electrodos**



**Figura 38.- Postura correcta**

### 10.6.3. Análisis Bioquímico

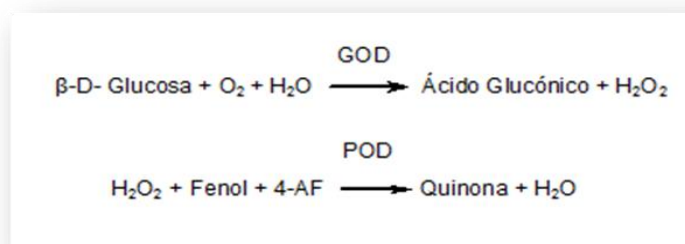
Se obtuvieron muestras de sangre venosa antecubital entre las 8:00 y 9:00 a.m., después de un ayuno de 8 horas. Se colectaron en tubos con EDTA y sin anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 20 minutos para separar el suero y plasma para preparar alícuotas de 500  $\mu$ L que se mantuvieron en congelación  $-70^{\circ}$  C hasta la realización de los ensayos.

Glucosa, colesterol HDL y triglicéridos, fueron determinados en suero mediante métodos enzimáticos en el Analizador Químico Semiautomatizado Ekem Control Lab.

#### 10.6.3.1. Determinación cuantitativa de glucosa (SPINREACT, S. A. U)

##### 10.6.3.1.1. Principio del método

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) producido, se detecta mediante un receptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de peroxidasa (POD):



La intensidad de color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra analizada.

#### 10.6.3.1.2. Reactivos

Tabla de reactivos		
R	TRIS pH 7.4	92 mmol/L
	Fenol	0.3mmol/L
	Glucosa oxidasa	15000U/L
	Peroxidasa	1000U/L
	4 – Aminofenazona (4-AF)	2.6mmol/L
Colesterol Cal	Patrón primario acuoso de glucosa 100mg/dL	

#### 10.6.3.1.3. Procedimiento

1. Ajuste el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
2. Pipetear en tubos (12 x 75) lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
R(mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	---	10	---
Muestra (µL)	---	---	10

3. Mezclar e incubar 10 min. a 37°C o 30 min. a temperatura ambiente (15-25°C)
4. Leer la absorbancia ( $\lambda$ 490-550) (Eken analizador semi-automatico, kontroLab) (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 min.

#### 10.6.3.1.4. Cálculos

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times 100 \text{ mg/dL} = \text{mg/dL de Glucosa en la muestra}$$

#### 10.6.3.1.5. Valores de referencia

Suero o plasma 60-110mg/dL

#### 10.6.3.1.6. Significado clínico

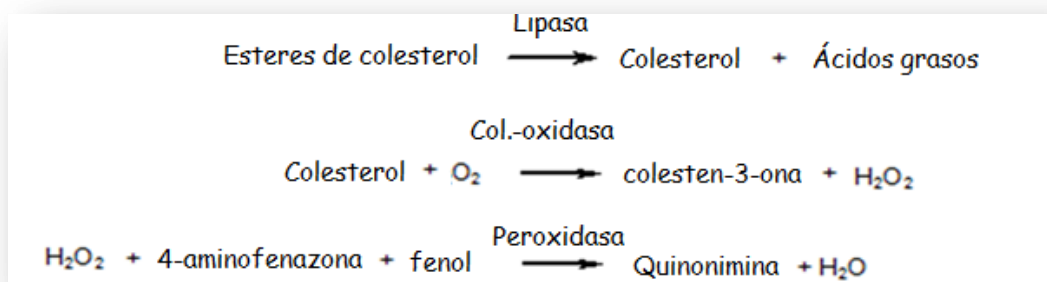
La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo; la insulina facilita la entrada de glucosa en las células. La diabetes mellitus es una enfermedad que se manifiesta por una hiperglucemia, causada por el déficit de insulina.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

#### 10.6.3.2. Determinación de colesterol total (similar que en glucosa)

##### 10.6.3.2.1. Principio del método

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración del colesterol presente en la muestra ensayada.

##### 10.6.3.2.2. Reactivos

Tabla de reactivos		
R	PIPES pH 6.9	90mmol/L
	Fenol	26mmol/L
	Colesterol esterasa	1000U/L
	Colesterol oxidasa	300U/L
	Peroxidasa (POD)	650U/L
	4-Aminofenazona (4-AF)	0.4mmol/L
Colesterol Cal	Patrón primario acuoso de colesterol	

#### 10.6.3.2.3. Procedimiento

1. Ajuste el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
2. Pipetear en tubos (12 x 75) lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
R(mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	---	10	---
Muestra (µL)	---	---	10

3. Mezclar e incubar 5 min. a 37°C o 10 min. a 15-25°C
4. Leer la absorbancia ( $\lambda$ 490-550) (Eken analizador semi-automático, kontroLab) (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 min.

#### 10.6.3.2.4. Cálculos

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de colesterol de la muestra}$$

#### 10.6.3.2.5. Valores de referencia

✓ EVALUACIÓN DE RIESGO

MENOS DE 200mg/dL	Normal
200-239mg/dL	Moderado
240 o más	Alto

#### 10.6.3.2.6. Significado clínico

El colesterol es una sustancia grasa presente en todas las células del organismo. El hígado produce naturalmente todo el colesterol que necesita para formar las membranas celulares y producir ciertas hormonas. La determinación del colesterol es una de las herramientas más importantes para el diagnóstico y clasificación de las lipemias. El aumento del nivel de colesterol es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular.

### 10.6.3.3 Determinación cuantitativa de colesterol HDL (similar que en glucosa)

#### 10.6.3.3.1. Principio del método

Las VLDL y LDL del suero o de plasma, se precipitan con fosfotungstato en presencia de iones magnesio. Tras su centrifugación, el sobrenadante claro, conteniendo las HDL se emplea para determinar el colesterol HDL.

#### 10.6.3.3.2. Reactivos

- ✓ Reactivo precipitante: Acido fosfotungstico 14 mmol/L
- ✓ Cloruro de magnesio 2mmol/L

#### 10.6.3.3.3. Procedimiento

1. Dosificar en tubos de centrifuga: 10  $\mu$ L del reactivo del precipitante, 100 $\mu$ L de la muestra.
2. Mezclar y dejar reposar 10min a temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 12000rpm durante 2min.
4. Recoger el sobrenadante y determinar el HDL.
5. Proceder según lo indicado en la metodología de la determinación de colesterol.

#### 10.6.3.3.4. Calculo de LDL

Se calcula mediante la fórmula de Friedewald:

LDL = colesterol total - (HDL + (Triglicéridos/5)).

#### 10.6.3.3.5. Valores de referencia

- ✓ HDL-colesterol

	hombres	Mujeres
Riesgo menor	> 55mg/dL	>65 mg/dL
Riesgo normal	35-55 mg/dL	45-65 mg/dL
Riesgo elevado	<35 mg/dL	<45 mg/dL

- ✓ LDL-colesterol

Valores sospechosos a partir de: 150 mg/dL

Valores elevados a partir de: 190 mg/dL

#### 10.6.3.3.6. Significado clínico

El colesterol transporta por las lipoproteínas de alta densidad a menudo se denomina colesterol bueno ya que niveles elevados están relacionados con un menor riesgo cardiovascular

Un nivel bajo de colesterol HDL es considerado uno de los principales factores de riesgo cardiovascular.

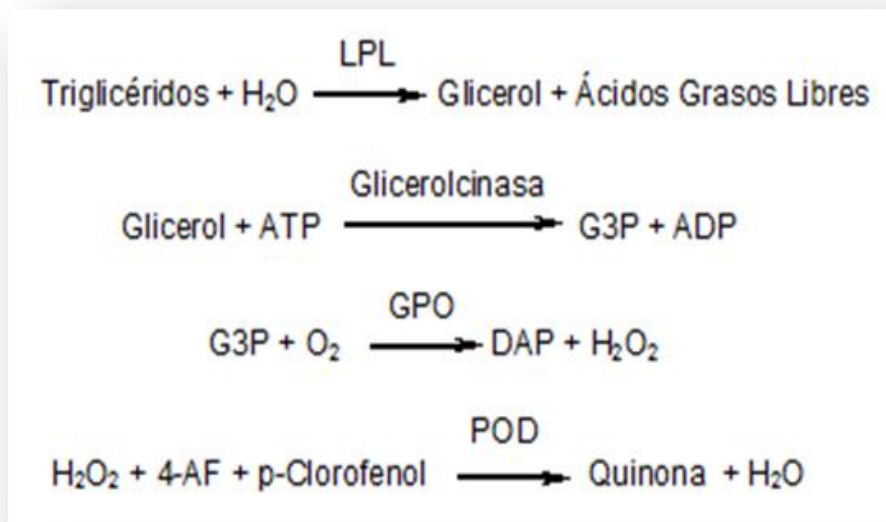
El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

#### 10.6.3.4. Determinación de triglicéridos (Igual que en glucosa)

##### 10.6.3.4.1. Principio del método

Los triglicéridos incubados con lipoproteínlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerolcinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) por GPO.

Al final el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



#### 10.6.3.4.2. Reactivos

Tabla de reactivos		
R	GOOD pH 6.3	50mmol/L
	p-Clorofenol	2mmol/L
	Lipoprotínlipasa	150000U/L
	Glicerolcínasa	500U/L
	Glicerol -3-oxidasa	3500U/L
	Peroxidasa (POD)	440U/L
	4-Aminofenazona (4-AF)	0.1mmol/L
	ATP	0.1mmol/L
Triglicéridos Cal	Calibrador primario de Triglicéridos	

#### 10.6.3.4.3. Procedimiento

1. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
2. Pipetear en un tubo 12 x 75:

	Blanco	Patrón	Muestra
R(mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	---	10	---
Muestra (µL)	---	---	10

Mezclar e incubar 5min a 37°C o 10min a 15-25°C

Leer la absorbancia ( $\lambda$ 490-550) (Eken analizador semi-automático, kontro Lab) (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco del reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

#### 10.6.3.4.4. Cálculos

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times \text{mg/dL} = \text{mg/dL de Triglicéridos en la muestra}$$

#### 10.6.3.4.5. Valores de referencia

- ✓ Hombres 40-160mg/dL
- ✓ Mujeres 35-135mg/dL

#### 10.6.3.4.5. Significado clínico

Los triglicéridos son grasas que suministran energía a la célula. Al igual que el colesterol son transportadas a las células del organismo por las lipoproteínas de la sangre.

Una dieta alta en grasas saturadas o carbohidratos puede elevar los niveles de triglicéridos. Su aumento es relativamente inespecífico. Diversas dolencias como ciertas disfunciones hepáticas (cirrosis, hepatitis, obstrucción biliar) o diabetes mellitus, pueden estar asociadas a su elevación.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

#### 10.6.3.5. Determinación de HbA1c (Analizadores roche/Hitachi 912, 913 Cobas®)

La hemoglobina (Hb) es la proteína de pigmentación roja que se localiza en los eritrocitos y consiste en 4 grupos hemo. Su función principal es el transporte de oxígeno y el dióxido de carbono en la sangre. Cada molécula de Hb es capaz de fijar cuatro moléculas de oxígeno.

La HbA1c se forma en dos pasos por la reacción no enzimática de la glucosa con el grupo amino N-terminal de la cadena beta de la Hb de los adultos (HbA). El primer paso es reversible y resulta en la HbA1c, de comportamiento lábil. La HbA1c se convierte en un segundo paso de reacción a su forma estable. En los eritrocitos, la cantidad relativa de HbA convertida en HbA1c se incrementa según la concentración promedio de glucosa en sangre. La conversión a HbA1c estable se encuentra limitada por la duración de la vida media de los eritrocitos de aproximadamente 100-120 días. Así, la HbA1c refleja el nivel promedio de glucemia de los 2 a 3 meses precedentes. Por eso la HbA1c permite controlar los niveles e glucemia a largo plazo en individuos con Diabetes Mellitus. Los niveles de glucosa recientes, tienen una mayor influencia en el nivel de HbA1c. Indicando el nivel medio de glucemia, la HbA1c permite predecir el riesgo de que se produzcan complicaciones en diabéticos.

Como rutina clínica, generalmente resulta suficiente determinar la HbA1c cada 3 o 4 meses.

##### 10.6.3.5.1. Principio del método

El presente Test determina las variantes de hemoglobina glucosilada en el término N de la cadena *b* con regiones idénticas a la HbA1c reconocibles para el anticuerpo. Puede emplearse para determinar el estado metabólico de diabéticos con uremia o con las hemoglobinopatías más frecuentes. El método utiliza TTAB<sup>a</sup>, como detergente en el reactivo hemolizante para eliminar la interferencia producida por los leucocitos.

a) TTAB = Bromuro de tetradeciltrimetilamonio

#### Hemoglobina A1



La determinación de HbA1c se basa en el inmunoensayo turbidimétrico de inhibición (TINIA) para sangre completa hemolizada.

- ✓ Muestra y adición de R1

La glucohemoglobina (HbA1c) en la muestra reacciona con el anticuerpo anti-HbA1c para formar complejos solubles antígeno-anticuerpo. Debido a que existe un único punto específico de fijación para el anticuerpo anti-HbA1c en la molécula de HbA1c, no se forman complejos.

- ✓ Adición de R2 e inicio de la reacción:

Los polihaptenos reaccionan con los anticuerpos anti-HbA1c excesivos y forman un complejo anticuerpo-polihapteno insoluble que puede ser determinado turbidimétricamente.

#### 10.6.3.5.2. Reactivos

Tabla de Reactivos y soluciones de trabajo		
HbA1c	R1	Tampón MES <sup>b</sup> : 0.025mol/L; tampón TRIS <sup>c</sup> : 0.015mol/L, pH 6.2; anticuerpo anti-HbA1c (suero ovino): ≥ 0.5 mg/mL; estabilizadores.
	R2	Tampón MES: 0.025mol/L; tampón TRIS: 0.015mol/L, pH 6.2; polihapteno HbA1c: ≥ 8µg/mL; estabilizadores.
	3 <sup>a</sup> - d	Hemolizado derivado de sangre humana y ovina; TTAB: 9 g/L; estabilizador.
Hemoglobina	R1	Tampón fosfato: 0.02 mol/L, pH 7.4; estabilizadores

b) MES = ácido 2-morfolinoetano sulfónico

c) TRIS = (hidroximetil)-aminometano

#### 10.6.3.5.3. Procedimiento

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para la recolección y preparación de las muestras (12 x 75).

- Sangre tratada con EDTA o Heparinizada

Antes de pipetear la muestra mezclar bien para distribuir los eritrocitos homogéneamente, evitando la formación de espuma.

Atempere el reactivo hemolizante antes de usar.

Tomar 1mL de reactivo hemolizante + 10µL de muestra de sangre, colocarlos en un tubo 12 x 75.

Mezcle suavemente; evitando la formación de espuma. El hemolizado está listo para usar cuando la solución haya pasado del color rojo al verde castaño. (Aprox. 1-2 min.).

Leer la absorbancia (Equipo modular Analytics SWA para determinar HbA1c, con espectrofotómetro de longitud múltiple, con 12 longitudes de onda disponibles)

#### 10.6.3.5.4. Cálculos

- ✓ Protocolo 1 (HbA1c en mmol/mol según la IFCC):

El cálculo del cociente de la hemoglobina A1c se realiza a través del cociente HbA1c/Hb, es decir:

$$\text{mM/M HbA1c} = \frac{\text{HbA1c [g/dL]}}{\text{Hb [g/L]}} \times 1.000$$

- ✓ Protocolo 2 (HbA1c porcentual según el DCCT/NGSP):

El cálculo de la concentración porcentual de hemoglobina A1c se realiza a través de la fórmula correctiva:

$$\% \text{ HbA1c} = \left( 91.5 \times \frac{\text{HbA1c [g/dL]}}{\text{Hb [g/L]}} \right) + 2.15$$

#### 10.6.3.5.5. Valores de referencia

- ✓ Protocolo 1 (HbA1c en mmol/mol según la IFCC): 29-42mmol/mol de HbA1c
- ✓ Protocolo 2 (HbA1c porcentual según el DCCT/NGSP): 4.8-5.9% de HbA1c

#### 10.6.3.5.6. Significado clínico

Los niveles de HbA1c superiores al intervalo de referencia establecido indica la existencia de una hiperglucemia durante un lapso mínimo de los 2 a 3 meses precedentes. Si la diabetes no se controla adecuadamente, las concentraciones de HbA1c pueden alcanzar e incluso superar 195mmol/mol de HbA1c (IFCC) o los 20% de HbA1c (DCCT/GSP).

Los niveles HbA1c inferiores al intervalo de referencia establecido suelen indicar un episodio reciente de hipoglucemia, la presencia de variantes de Hb o bien la reducción de la vida media de los eritrocitos.

#### 10.7. Quimioluminiscencia en la determinación de Osteocalcina

La quimioluminiscencia se define como la emisión de radiación electromagnética (normalmente en la región del visible o del infrarrojo cercano), producida por una reacción química. La intensidad de la emisión es en función de la concentración las especies químicas implicadas en la reacción de quimioluminiscencia, las medidas de la intensidad de emisión pueden emplearse con fines analíticos.

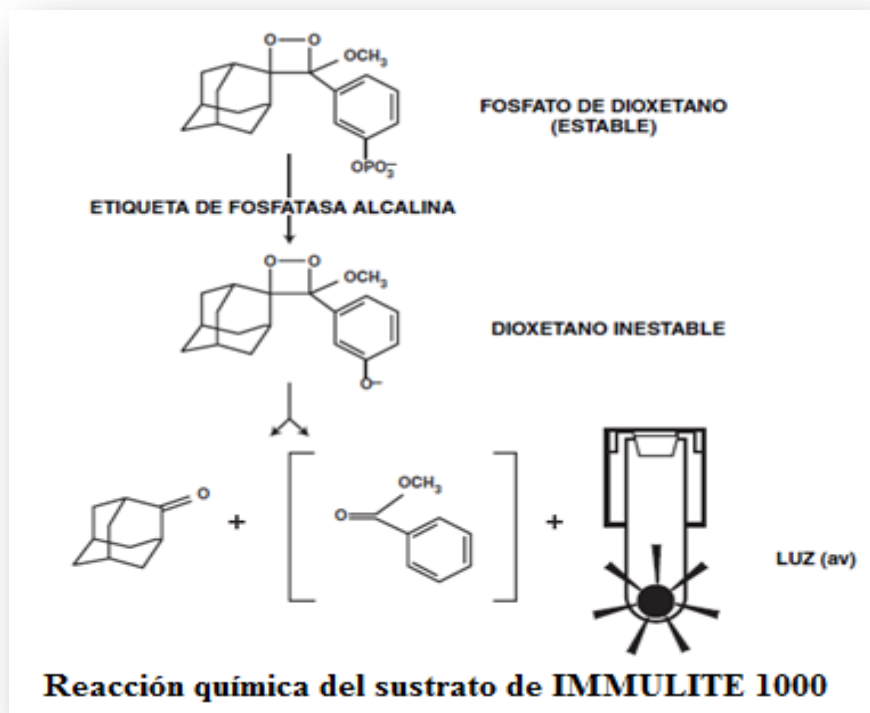
Las determinaciones por quimioluminiscencia pueden ser inmunométricas o competitivas. Son reacciones inmunométricas cuando reacciona la hormona a medir con su anticuerpo correspondiente que está unido a una fase sólida y se agrega después un segundo anticuerpo dirigido contra la hormona, marcada con la fosfatasa alcalina. Posteriormente se adiciona el dioxetano- $\text{PO}_4$  sustrato que es degradado por la enzima desfosforilándolo a un anión inestable que emite fotones, la cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la cantidad de hormona presente en la muestra.

El sistema IMMULITE 1000 utiliza como fase sólida perlas de plástico recubiertas de anticuerpo o antígeno específicos para cada ensayo, reactivos marcados con fosfatasa alcalina y un sustrato quimioluminiscente. La perla recubierta se aloja en un dispositivo de plástico propio, denominado Unidad de Ensayo, que sirve como recipiente de reacción para la reacción inmune, los procesos de incubación y lavado, así como para el desarrollo de la señal. El sistema IMMULITE 1000 automatiza por completo el proceso de ensayo.

Tras la incubación de la perla con la muestra y la fosfatasa alcalina, la mezcla de reacción se separa de la perla mediante la centrifugación a alta velocidad de la Unidad de Ensayo sobre su eje vertical. Los contenidos líquidos al completo (la muestra, el exceso de reactivo y las soluciones de lavado) se transfieren a una cámara de desecho coaxial a la Unidad de Ensayo. La perla se deja sin marcaje residual unido. La cantidad de marcaje unido es posteriormente cuantificado con un sustrato de dioxetano que produce luz.

La emisión de luz se mide mediante un Tubo Fotomultiplicador y se calculan los resultados para cada muestra. En la reacción luminogénica, el sustrato (un fosfato de adamantil dioxetano) se desfosforila por la acción de la fosfatasa alcalina capturada en la perlita, dando un anión intermedio inestable. El intermedio inestable emite un fotón en la descomposición.

La cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la cantidad de fosfatasa alcalina unida.



#### 10.7.1. Principio del método

IMMULITE/IMMULITE 1000 osteocalcina es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida. La fase sólida (bola) está recubierta de un anticuerpo monoclonal anti-osteocalcina procedente de ratón. La fase líquida consiste en fosfatasa alcalina conjugada a anticuerpos policlonales anti-osteocalcina en una solución tamponada. La muestra del paciente y del reactivo son incubadas juntas, con la perla recubierta durante 30 minutos. Durante este ciclo la osteocalcina presente en la muestra forma un complejo tipo sándwich con el anticuerpo monoclonal anti-osteocalcina de la bola y anticuerpo policlonal de conejo conjugado a la enzima fosfatasa alcalina del reactivo. La muestra del paciente y reactivo no unido se elimina por lavado y centrifugación. Por último, el sustrato se añade al tubo de reacción con la bola y la señal se genera en proporción a la cantidad de enzima unida.

**Ciclos de incubación:** 1 x 30 minutos.

**Tiempo hasta el primer resultado:** 42 minutos



#### 10.7.2. Reactivos

- 10 $\mu$ L de plasma (el recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100  $\mu$ L mas que le volumen total requerido) sumergir los tubos en un baño de hielo manteniendo una temperatura alrededor de 2-4°C.
- Ajustadores de osteocalcina (LONL, LONH), cada ajustador se debe reconstituir previamente con 2 mL de agua desionizada y refrigerar.
- Unidad de análisis de Osteocalcina

#### 10.7.3. Procedimiento

Ingresa los códigos requeridos para la determinación de OCN en la computadora del equipo (ajustadores).

Mantener las muestras en baño de hielo, aproximadamente 4°C.

Coloca una unidad de reacción, seguida de una copa en el cual esta contenida la muestra a analizar en la cadena del equipo.

El equipo automáticamente pipetea las cantidades predeterminadas, para la cuantificación

#### 10.7.4. Cálculos

Los resultados se expresan en ng/mL.

#### 10.7.5. Valores de referencia

Osteocalcina intacta:

Hombres: 11.1 –32.2 ng/mL

Mujeres: 3.8- 30 ng/mL

Osteocalcina N-MidFragment (ECLIA):

Hombres: 11-46 ng/mL

Mujeres:

Premenopausia: 12-41 ng/mL

Post menopausia: 20-48 ng/mL (sin terapia hormonal).

#### 10.7.6. Significado clínico

La osteocalcina es una proteína de pequeño tamaño, producida por los osteoblastos durante la formación ósea, incorporándose dentro de la matriz del hueso. En mujeres normales y en mujeres con osteoporosis, los niveles de osteocalcina correlacionan positivamente con el cociente de formación ósea, medida por histomorfometría.

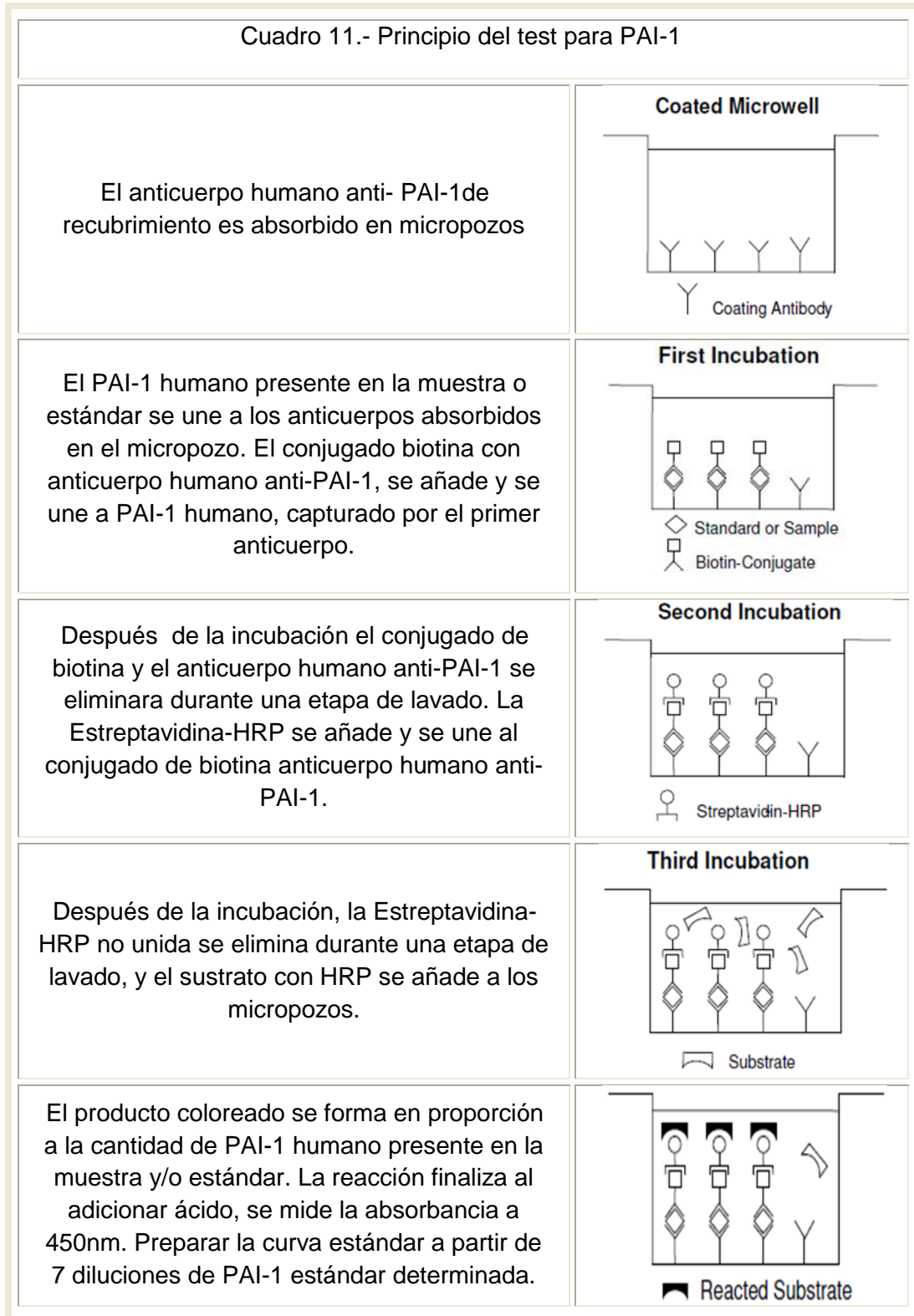
Se observan incrementos de osteocalcina en aquellas patologías donde hay un incremento de la formación del hueso o, lo que es lo mismo, un aumento en la actividad osteoblástica. En estos casos las concentraciones de osteocalcina correlacionan bien con otros marcadores como la fosfatasa alcalina y la histomorfometría ósea. También aumenta en la insuficiencia renal aguda, dado su metabolismo renal. Es un marcador de la formación y remodelación ósea.

#### 10.8. Determinación del Inhibidor Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) (BioVendorResearch and diagnostic Products BMS2033)

**PAI-1** se determinó en plasma con citrato de sodio a través de Coaliza® PAI-1 de Chromogenix (Instrumentation Laboratory Milan, Italy) con una sensibilidad de 2.5 ng/mL. Es un sistema de inmunoensayo en fase sólida (ELISA), para la determinación cuantitativa del PAI-1 en plasma humano o sobrenadante de cultivo celular. La medición se realizó en un Lector de ELISA

El PAI-1 es sintetizado en diversas células como: las plaquetas, células endoteliales, placenta, hepatocitos, células del músculo liso vascular y en los monocitos. El PAI-1 se almacena únicamente en la plaqueta y, se secreta inmediatamente después de su síntesis. Numerosas sustancias regulan su síntesis a nivel endotelial: endotoxina, interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF), trombina y diversos factores de crecimiento aumentan dicha síntesis, mientras que la insulina es el principal regulador de la síntesis de PAI-1 a nivel del hepatocito. Las concentraciones normales de PAI-1 son de 7-21 UI/mL. El PAI-1 presenta un ritmo circadiano, su concentración plasmática es mayor por la mañana y más baja durante la tarde o noche.

10.8.2. Principio del método



### 10.8.3. Reactivos

- 1 bolsa de aluminio con una microplaca revestidos con anticuerpo monoclonal para PAI-1 humano.
- 1 vial (100µL) conjugado biotina anticuerpo anti-PAI-1 humano policlonal.
- 1 vial (150 µL) Estreptavidina-HRP.
- 2 viales estándar de PAI-1 humano liofilizado, 10000 pg/mL después de la reconstitución.
- 1 vial (5 ml) Concentrado Ensayo Tampón 20x (PBS con 1% de Tween 20 y 10% de BSA).
- 1 botella (50 ml) de tampón de lavado concentrado 20x (PBS con 1% de Tween 20).
- 1 frasco (15 ml) de solución de sustrato (tetrametil-bencidina).
- 1 frasco (12 ml) de solución de parada (ácido fosfórico 1M).
- 4 cintas adhesivas transparentes.

### 10.8.13. Procedimiento

- a. Prediluir las muestras antes de iniciar el procedimiento de prueba. Diluir las muestras 1:50 con buffer de ensayo (1x). Dilución: muestra de 10µL+ 490 µL de buffer de ensayo(1x)
- b. Determinar el número adecuado de micropozos necesarios para la determinación de PAI-1 y de los espacios para el blanco y estándar.
- c. Lave la microplaca dos veces con buffer de lavado aproximadamente 400 µL por micropozo, aspirando completamente el contenido de los micropozos entre cada lavado, reposando durante 10-15 segundos antes de la siguiente aspirado.
- d. Alternativamente, la dilución estándar puede ser preparada en tubos: Añadir 100 µL de buffer de ensayo (1x) en dos columnas a todos los pocillos (estándar). Pipetear 100 µL de estándar preparado (la concentración = 10000 pg/mL)
- e. Mezclar el contenido de los micropozos A1 y A2 en repetidas aspiraciones y expulsión (concentración del estándar 1, S1= 5000 pg/mL), y transferir 100 µL de los micropozos B1y B2, respectivamente.
- f. Tener cuidado de no rayar la superficie interior de las cúpulas. Continúe con este procedimiento 5 veces, formando dos filas de diluciones estándar de PAI-1 humano que van desde 5000 hasta 78 pg/mL. Deseche 100 µL de los contenidos del último micropozo (G1, G2) utilizada.
- g. En caso de una dilución externa del estándar pipetear 100 µL de estas diluciones estándar (S1-S7) en los micropozos estándar de acuerdo con el cuadro siguiente:



*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

Table depicting an example of the arrangement of blanks, standards and samples in the microwell strips:

	1	2	3	4
A	Standard 1 (5000 pg/ml)	Standard 1 (5000 pg/ml)	Sample 1	Sample 1
B	Standard 2 (2500 pg/ml)	Standard 2 (2500 pg/ml)	Sample 2	Sample 2
C	Standard 3 (1250 pg/ml)	Standard 3 (1250 pg/ml)	Sample 3	Sample 3
D	Standard 4 (625 pg/ml)	Standard 4 (625 pg/ml)	Sample 4	Sample 4
E	Standard 5 (313 pg/ml)	Standard 5 (313 pg/ml)	Sample 5	Sample 5
F	Standard 6 (156 pg/ml)	Standard 6 (156 pg/ml)	Sample 6	Sample 6
G	Standard 7 (78 pg/ml)	Standard 7 (78 pg/ml)	Sample 7	Sample 7
H	Blank	Blank	Sample 8	Sample 8

- h. Adicionar 100 µL de buffer de ensayo (1x) por duplicado a los micropozos con blanco.
- i. Adicionar 50 µL de buffer de ensayo (1x) en los micropozos para la muestra.
- j. Adicionar 50 µL de muestra prediluida en los micropozos correspondientes.
- k. Cubrir con una película adhesiva e incubar a temperatura ambiente (18 a 25 °C) durante 2 h, con agitación mecánica a 100rpm.
- l. Prepara la Estreptavidina-HRP.
- m. Retirar la cinta adhesiva de la microplaca. Lavar la microplaca 3 veces como lo indica el protocolo de prueba. Proceder inmediatamente a la etapa siguiente.
- n. Adicionar 100 µL de Estreptavidina-HRP diluida a todos los micropozos incluyendo los blanco.
- o. Cubrir con una película adhesiva e incubar a temperatura ambiente (18 -25 °C) durante 1 h, con agitación mecánica a 100 rpm.
- p. Retirar la cinta adhesiva de la microplaca. Lavar la microplaca 3 veces como lo indica el procedimiento.
- q. Pipetear 100 µL de solución de sustrato TMB a toda la microplaca.
- r. Incubar la microplaca a temperatura ambiente (18 – 25 °C) durante 10 minutos. Evite la exposición a la luz.

El desarrollo del color en la placa debe ser controlado y detener la reacción del sustrato antes de que los micropozos positivos ya no sean adecuados. La determinación del período de tiempo ideal para el desarrollo de color se tiene que hacer individualmente para cada ensayo. Se recomienda añadir la solución "stop" (solución que detiene la reacción de peroxidasa/TMB) cuando, el estándar más alto presente un color azul oscuro intenso. Alternativamente, el desarrollo de color puede ser detectado por el lector de ELISA a 620 nm. El BMS2033 21 y BMS2033TEN PAI-1 humano la reacción del sustrato debe detenerse tan pronto como un estándar ha llegado a la densidad óptica de 0,6 a 0,65.

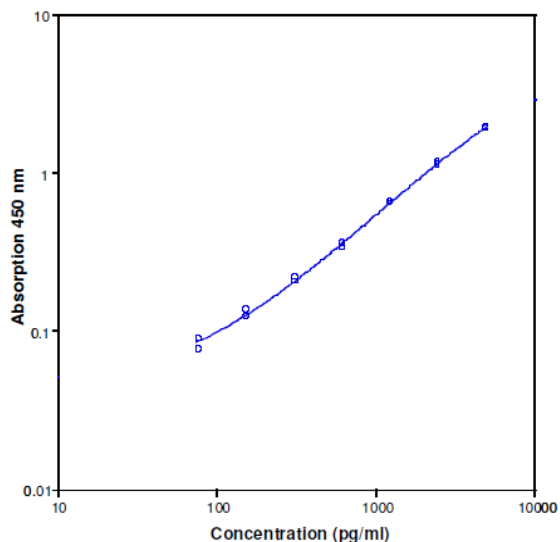
- s. Detener la reacción enzimática pipeteando rápidamente 100 µL de solución de "stop" en cada micropozo. Los resultados deben leerse inmediatamente después de que se

agrega la solución de parada dentro de 1 h si las tiras se almacenan entre 2 - 8°C en la oscuridad.

- t. Leer la absorbancia de la placa en un espectrofotómetro usando 450 nm como la longitud de onda primaria (opcionalmente 620 nm como la longitud de onda de referencia; 610 nm a 650 nm es aceptable).

#### 10.8.4. Cálculos

- Calcular los valores de absorbancia promedio para cada conjunto de estándares y de las muestras por duplicado.
- Para determinar la concentración circulante de PAI-1 humano para cada muestra, primero hay que encontrar el valor de las absorbancias medidas en la ordenada y extender una línea horizontal a la curva estándar. En el punto de intersección, se extiende una línea vertical a la abscisa y la lectura correspondiente es de la concentración de PAI-1 humano.
- Si las instrucciones del protocolo se siguieron correctamente, las muestras tienen una dilución 1:100 (50 µL 1:50 muestra prediluido + 50 µL de buffer de ensayo (1x)), la concentración al leer la curva estándar debe ser multiplicado por el factor de dilución (100).
- Cálculo de la concentración de las muestras, si esta es superior al estándar del micropozo 1 dará lugar a concentraciones erróneas, altos niveles de PAI-1 humanos (Efecto Hook), estas muestras requieren predilución más externo de acuerdo con valores esperados PAI-1 humanos de buffer de ensayo (1x) con el fin de cuantificar con precisión el PAI-1 humano.
- Se sugiere que cada instalación de pruebas establece una muestra control de PAI-1 humano de concentración conocida y se ejecuta este control adicional con cada ensayo. Si los valores obtenidos no están dentro del intervalo esperado del control, los resultados del análisis pueden ser válidos.



#### 10.8.5. Valores de referencia

Los niveles plasmáticos de PAI-1 en sujetos sanos se encuentran entre 0,5-40 U/mL, mientras que los de PAI-1 antigénico (plaquetario) están alrededor de 20 ng/mL.

#### 10.8.6. Significado clínico

El sistema activador del plasminógeno está implicado en los procesos de remodelación del tejido y juega un papel importante en la invasión tumoral y metástasis. Las principales proteínas integrantes de este sistema son el activador del plasminógeno tipo urocinasa (uPA), los inhibidores activadores del plasminógeno tipo 1 y tipo 2 (PAI-1 y PAI-2) y el receptor específico (uPAR).

El inhibidor PAI-1 se une tanto a uPA como al complejo uPA-uPAR. Sus funciones son numerosas y complejas, pero principalmente controlan la actividad proteolítica e influyen en la migración celular y la promoción o inhibición de la célula tumoral indiferenciada a través de la interacción con vitronectina.

Estos factores proteolíticos como pronóstico de la enfermedad del cáncer han sido observados en una variedad de tumores, incluyendo cáncer de mama, cuerpo uterino, ovario, estómago, colon, pulmón, cerebro, hígado, vejiga y tejido blando. Análisis estadísticos de estos factores revelaron que u-PA, u-PAR y PAI-1/2 son estadísticamente factores pronóstico independientes con la facultad de predecir si el paciente está libre de enfermedad y/o la supervivencia del mismo.

#### 10.9. Análisis estadístico

Los datos se presentaron con medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo a la distribución de los datos. Se utilizó una t de student para analizar los grupos independientes que presenten una distribución normal y una U de Man-Whitney para los grupos independientes cuando presentan una distribución no paramétrica.

Considerado con significancia estadística un valor de  $p < 0.05$ . El análisis estadístico se efectuó mediante el paquete SPSS versión 19.

#### 10.10. Aspectos éticos

Con relación a los aspectos éticos, a todos los participantes se les explicó y entregó la Hoja de Consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio. El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Investigación del Hospital de Especialidades del CMN S. XXI, conforme a los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los principios éticos para la investigación que involucra sujetos humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial (Helsinki, 1964), modificada en Tokio Japón (1975). Dicha declaración establece los siguientes lineamientos:

1. El objetivo principal de la investigación médica en humanos consiste en mejorar los procedimientos de diagnóstico, terapéuticos y profilácticos: así como la comprensión de la etiología y patogénesis de la enfermedad. Aun los métodos profilácticos de diagnóstico y terapéuticos más probados deben ponerse a prueba de modo continuo, a través de la investigación, para su efectividad, eficacia, accesibilidad y calidad.
2. Constituye el deber del médico, en una investigación médica, proteger la vida, la salud y la dignidad del ser humano.
3. En cualquier investigación con seres humanos, cada paciente potencial debe estar debidamente informado respecto a los objetivos, métodos, fuente de los fondos, cualquier conflicto de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, del mismo modo de los beneficios anticipados y peligros potenciales del estudio; también de la incomodidad que el estudio pueda implicar. Se le debe informar que tiene plena libertad de rehusarse a participar en el estudio en cualquier momento, sin ningún tipo de represalias. Luego de asegurarse que el paciente ha entendido la información, el médico deberá obtener voluntariamente por el paciente, de preferencia por escrito. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el consentimiento no escrito se debe documentar de manera formal y se debe dar testimonio del mismo.
4. El médico deberá informar al paciente acerca de los aspectos de atención profesional que se relaciona con la investigación. La negativa del paciente a participar en un estudio nunca ha de inferir con la relación médico-paciente.

## 10.11. Recursos

### 10.11.1. Humanos

- Médico endocrinólogo, químicos e investigadores de la UIM de Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS.
- Médicos radiólogos del Departamento de Radiología e Imagen del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS.

### 10.11.2. Materiales

- Equipo y material de laboratorio de la UIM de Enfermedades Endocrinas.

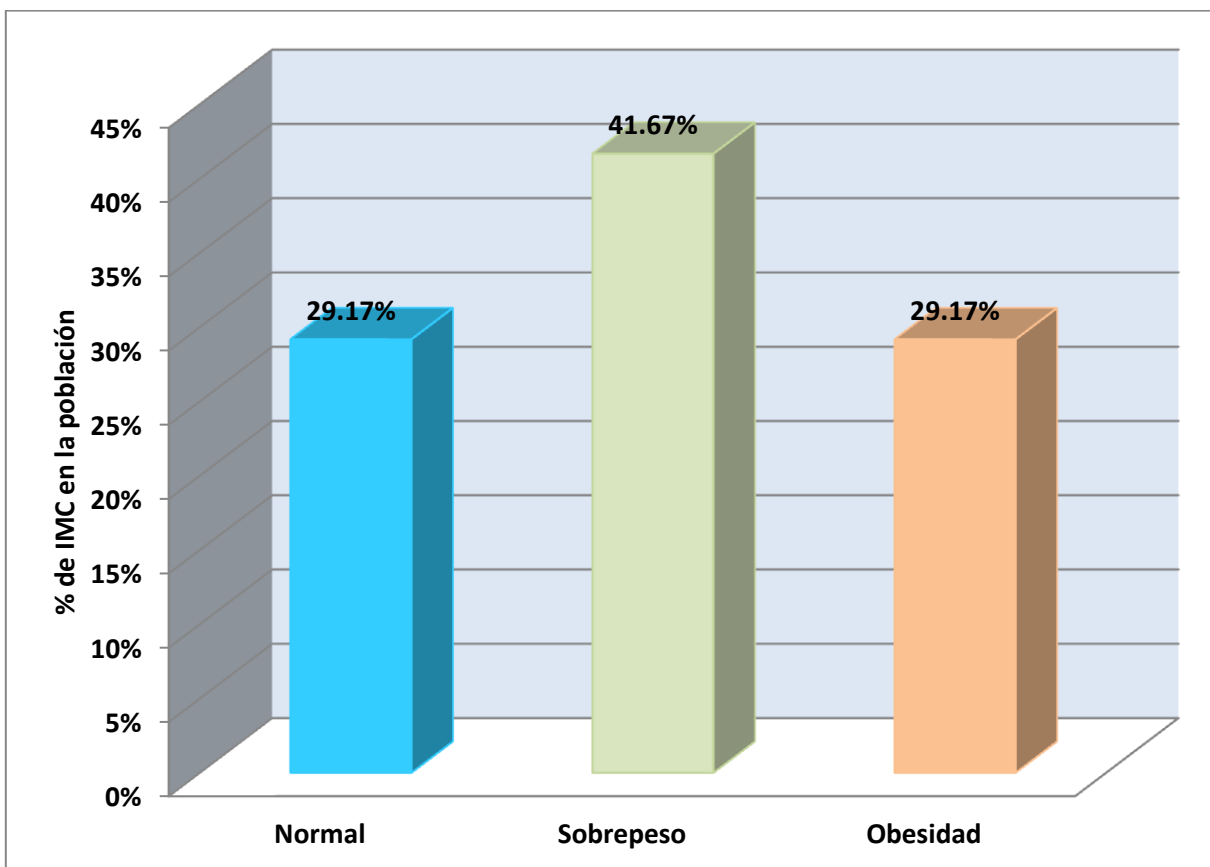
## 11. RESULTADOS

---

Se estudiaron 92 pacientes de los cuales 58 pacientes cumplieron con los criterios de selección. Se excluyeron 10 pacientes con diagnóstico de DM2, se conformaron dos grupos:

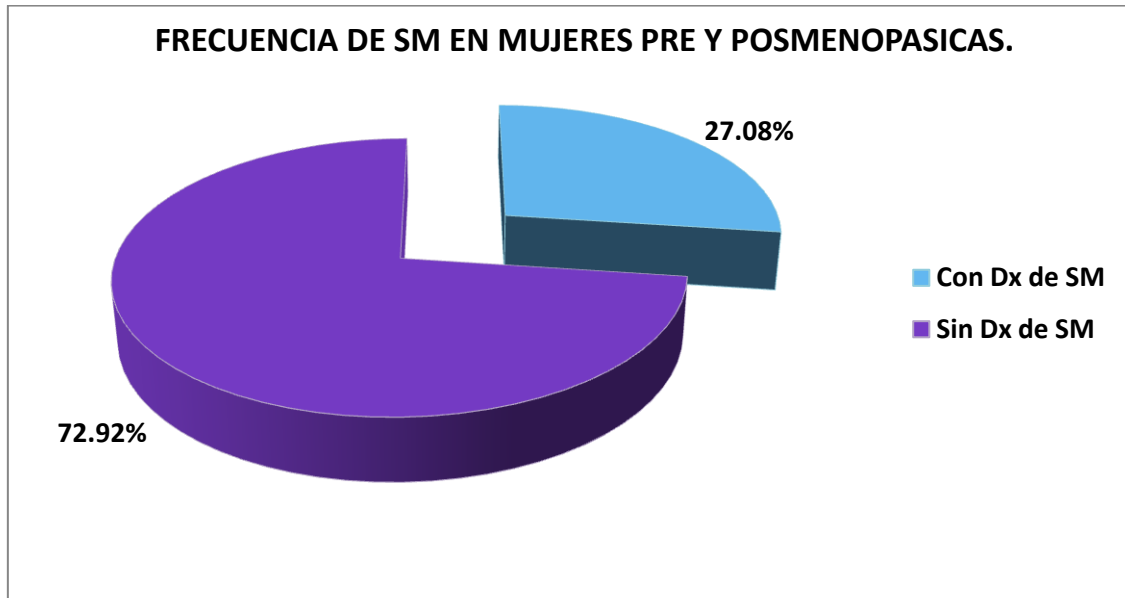
- 📄 Mujeres sin diagnóstico de SM
- 📄 Mujeres con diagnóstico de SM.

De un total de 58 pacientes 25 mujeres fue premenopáusicas, con edad un promedio de  $49.08 \pm 4.14$  años y 23 posmenopáusicas, con edad de  $53.26 \pm 5.16$  años. Para poder analizar nuestros datos es necesario clasificar el IMC de nuestra población obteniendo el porcentaje del grado de obesidad como se muestra en la gráfica 1. Donde se aprecia que en la población predominó el sobrepeso con 41.67%.



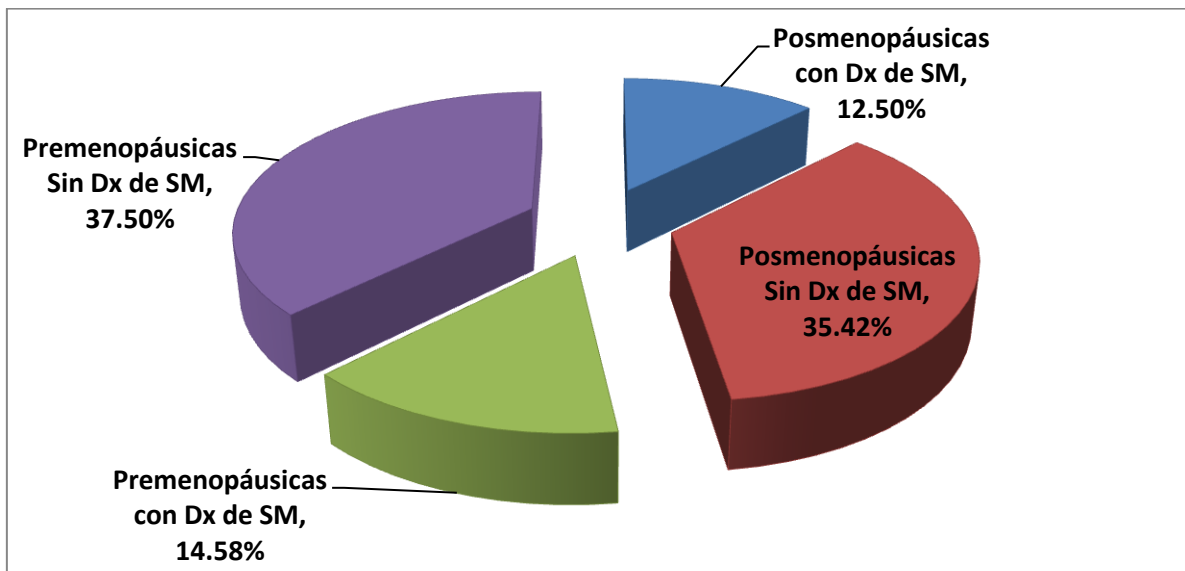
**Gráfica 1.-** Porcentaje del IMC en la población estudiada

De toda la población de pacientes analizadas se obtuvo el porcentaje de mujeres con y sin SM. 27.08% corresponde a pacientes con diagnóstico de SM y 72.92 % sin este diagnóstico. Como se puede observar en el gráfico 2.



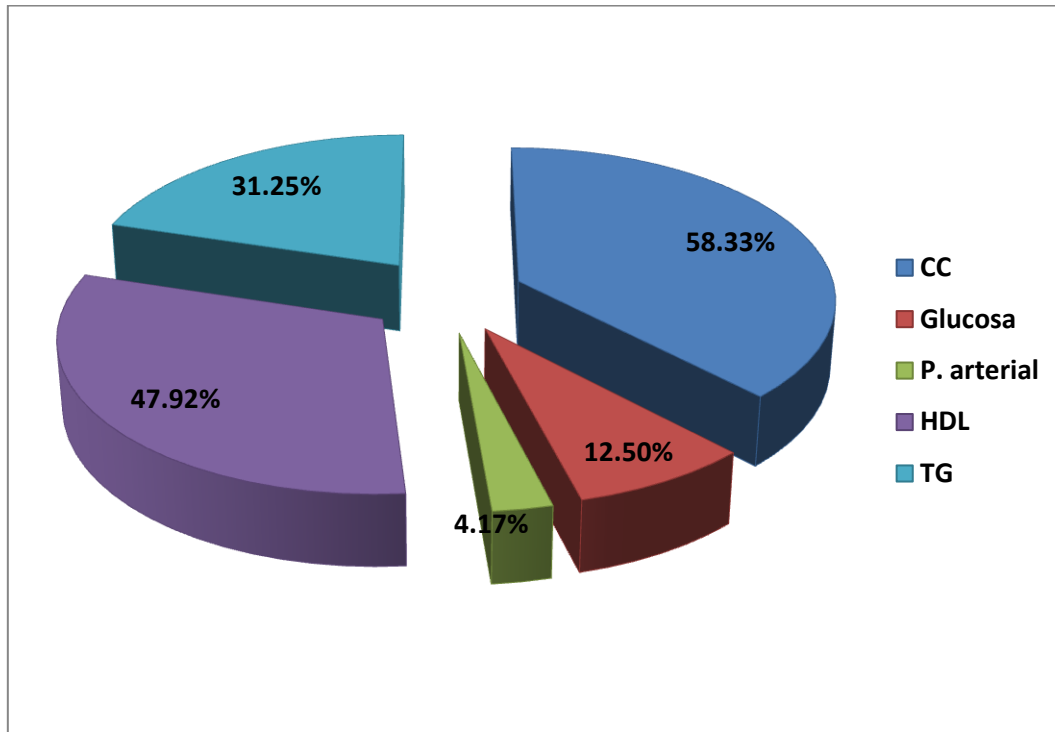
**Gráfica 2.-** Frecuencia de SM en pacientes en estudio.

En la gráfica 3 se muestra un subanálisis de los 2 grupos de estudio, en la que podemos observar que las mujeres premenopáusicas sin SM fueron un 37.50% y las que tienen diagnóstico de SM representan el 14.58% de la población total. En el caso de las pacientes posmenopáusicas sin SM fueron 35.42% y con SM 12.50%.



**Gráfica 3.** Frecuencia de SM en los subgrupos de estudio.

En la gráfica 4 se representa de manera porcentual la frecuencia de los componentes del SM, en la población estudiada, circunferencia de cintura (58.33%), HDL- colesterol (47.92%), triglicéridos (31.25%), presión arterial (4.17%), y glucosa (12.50%).



**Gráfico 4.-** Frecuencia de los componentes del SM en la población.

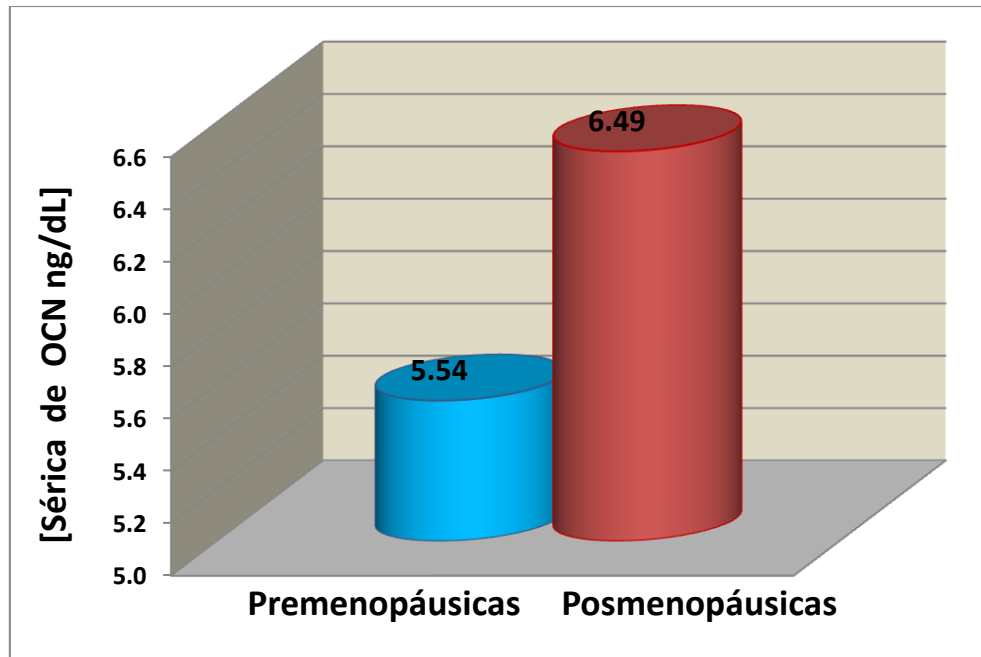
Se analizaron las características antropométricas y determinaciones bioquímicas de las pacientes en estudio, resultados se presentan en la tabla 1.

**TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>PREMENOPÁUSICAS (n = 25 )</b>	<b>POSMENOPÁUSICAS (n = 23)</b>	<b>Valor de P</b>
<b>EDAD</b>	49.08 ± 4.14	53.26 ± 5.16	0.003
<b>PESO</b>	69.19 ± 13.43	66.59 ± 12.53	0.409
<b>TALLA</b>	1.55 ± 0.06	1.54 ± 0.05	0.759
<b>IMC</b>	27.79 ± 6.96	27.91 ± 4.96	0.836
<b>P. CADERA</b>	106.08 ± 10.93	102.70 ± 10.09	0.219
<b>P. CINTURA</b>	92.42 ± 13.10	91.85 ± 14.12	0.718
<b>ICC</b>	0.87 ± 0.07	0.89 ± 0.09	0.369
<b>P. CUELLO</b>	36.46 ± 2.54	35.67 ± 2.45	0.284
<b>TA SIS</b>	108.60 ± 10.66	113.70 ± 16.11	0.187
<b>TA DIS</b>	73.60 ± 9.19	76.48 ± 10.82	0.333
<b>GLUCOSA</b>	82.08 ± 15.76	82.39 ± 12.53	0.940
<b>COLESTEROL</b>	217.80 ± 38.96	208.83 ± 32.24	0.391
<b>TRIGLICÉRIDOS</b>	150.56 ± 83.23	139.13 ± 46.15	0.665
<b>HDL</b>	52.60 ± 13.83	50.96 ± 11.99	0.663
<b>LDL</b>	135.09 ± 33.24	130.04 ± 29.48	0.582
<b>HBGLI</b>	5.29 ± 0.58	5.40 ± 0.56	0.498
<b>OCN</b>	5.54 ± 2.34	6.49 ± 2.94	0.212
<b>PAI-1</b>	27.82 ± 19.53	26.67 ± 23.49	0.680
<b>MBF</b>	26.48 ± 7.84	25.36 ± 8.13	0.536
<b>VFA</b>	123.76 ± 48.07	133.57 ± 59.66	0.680

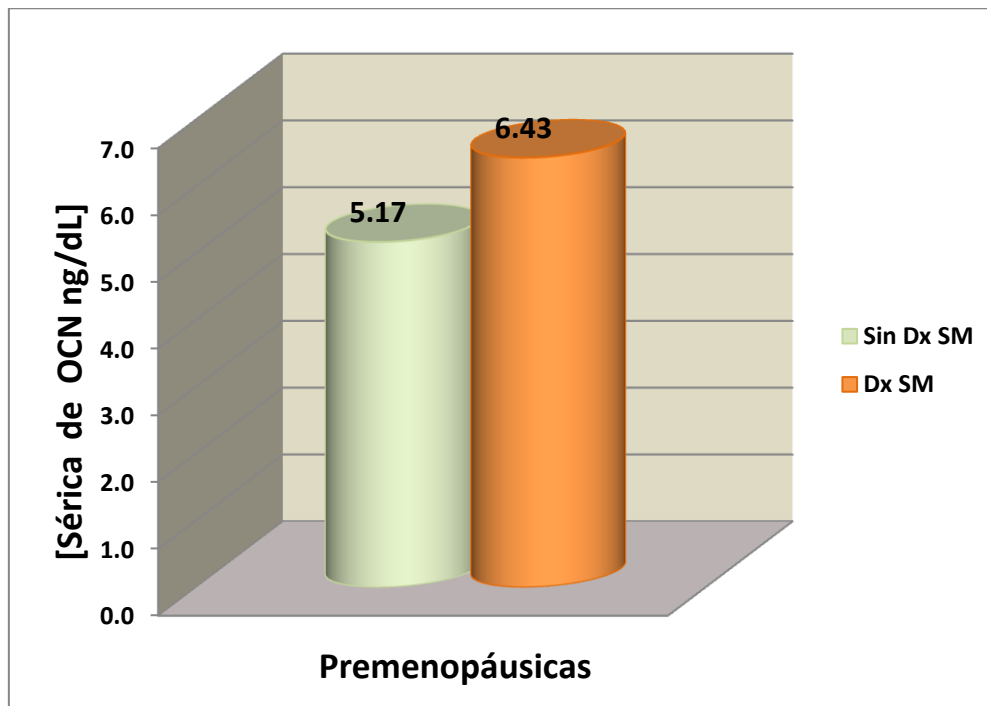
En la gráfica 5 se observan las concentraciones séricas de osteocalcina en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas con los siguientes valores 5.54 ng/dL y 6.49 ng/dL respectivamente, ( $p < 0.59$ ).





**Gráfica 5.-** Comparación de niveles séricos de osteocalcina en pre y posmenopáusicas.

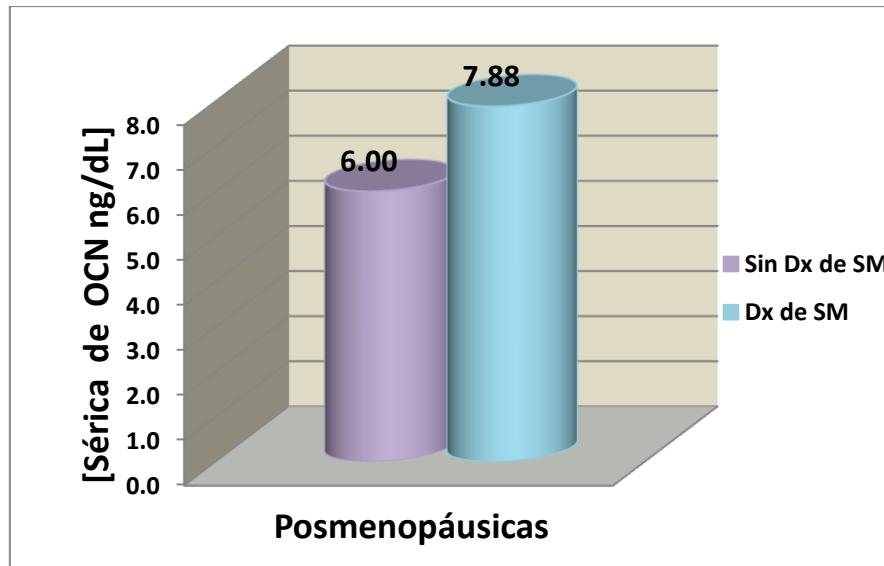
En la gráfica 6 se muestran los valores de osteocalcina de los dos subgrupos de la población premenopáusica, donde el 5.17 ng/dL corresponden a las pacientes sin diagnóstico de SM, y 6.43 ng/dL a las que tienen SM, ( $p < 0.08$ ).



**Gráfica 6.-** Comparación de los niveles séricos de osteocalcina en mujeres premenopáusicas

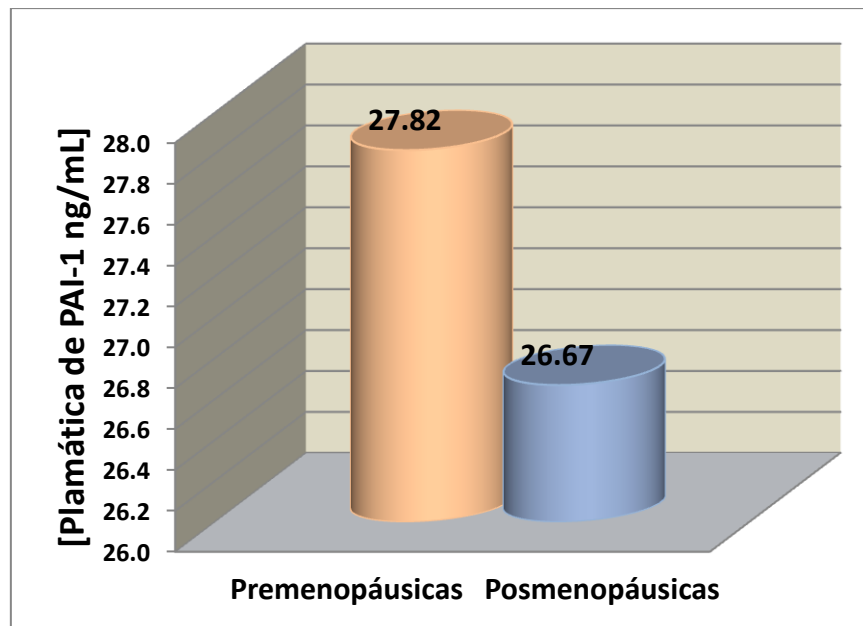
*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

En la grafica 7 se observan los valores de OCN de la población posmenopáusica con y sin SM. Las concentraciones de OCN en mujeres posmenopáusicas sin SM fueron 6 ng/dL y en las mujeres con SM fueron 7.88 ng/dL, ( $p < 0.69$ )



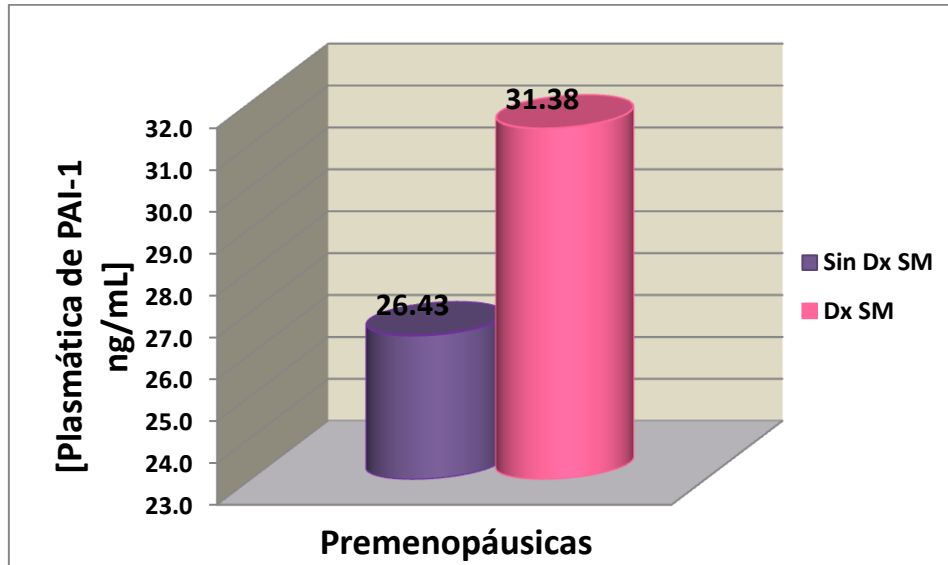
**Gráfica 7.-** Comparación de los niveles séricos de osteocalcina en mujeres posmenopáusicas

En la gráfica 8 se muestran las concentraciones plasmáticas PAI-1 en los dos grupos, pacientes premenopáusicas 27.82ng/mL, y en las posmenopáusicas es de 26.67 ng/mL. ( $p < 0.81$ )



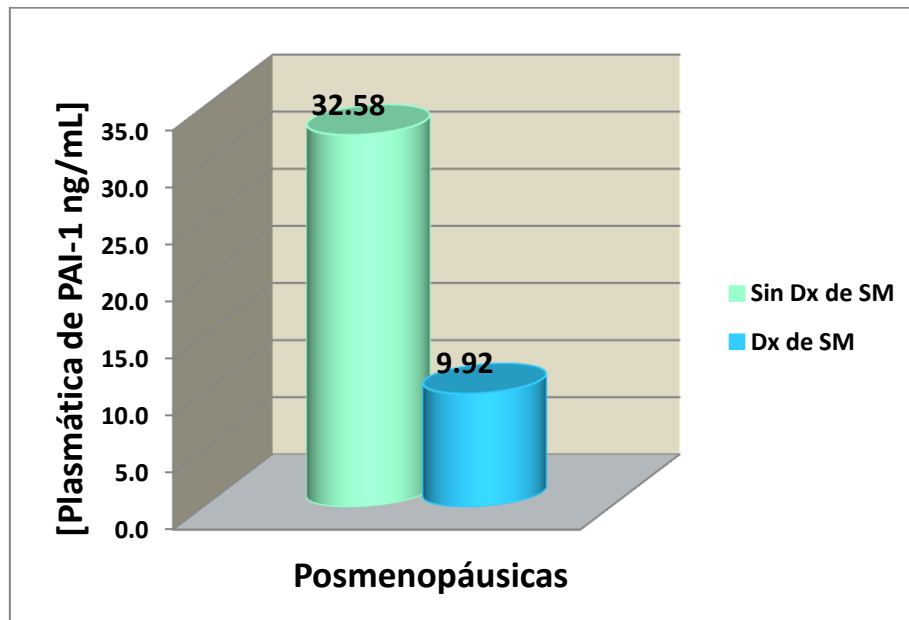
**Gráfica 8.-** Comparación de los Niveles plasmáticos de PAI-1 en mujeres pre y posmenopáusicas.

A continuación en la gráficas 9 se comparan las concentraciones plasmáticas de PAI-1 en la población premenopáusicas sin SM y con diagnóstico de SM. ( $p < 0.22$ )



**Gráfica 9.-** Comparación de los Niveles Séricos de PAI-1, en mujeres Premenopáusicas

A continuación en la gráficas 10 se comparan las concentraciones plasmáticas de PAI-1 en la población posmenopáusicas sin SM y con diagnóstico de SM. ( $p < 0.08$ )



**Gráfica 10. -** Comparación entre los niveles Séricos de PAI-1 en mujeres Posmenopáusicas

## 12. ANÁLISIS DE RESULTADOS

---

La obesidad en México es un problema de salud pública, debido a la asociación de ésta con enfermedades crónicas degenerativas, el riesgo cardiovascular, HTA, DM2 y dislipidemias; la prevalencia del SM varía de acuerdo a la definición empleada (IDF) para determinarla, así como la edad, sexo, origen étnico y sobre todo el estilo de vida.

La prevalencia del SM según la ATP III en Francia es de 11% (211) y en Estados Unidos 23.7% a los 20 años es de 6.7% y a los 50 años o más es de 42%. No se ha informado diferencia alguna relacionada con el género, ya que se presenta un 23.4% en mujeres y 24% en varones. Las estadísticas más recientes de México indican proporciones alarmantes de 13.6% con los criterios de la OMS y 26.6% según el National Cholesterol Education Program. (212)

En la Encuesta Nacional de Salud del 2004, el grupo de Aguilar-Salinas reportó la prevalencia de SM en población mexicana, de acuerdo a la aplicación de los criterios de la OMS y la ATP III, en un grupo de pacientes ambos sexos de entre 20 y 69 años, con un promedio de 40 años. En México la prevalencia en adultos de 20 años de edad y más fluctúa actualmente de 36.8%, 41.6% y 49.8% de acuerdo al ATP III, la AHA/NHLBI y IDF respectivamente. (213) Aguilar-Salinas y cols., en el 2009 reportó para la población mexicana una prevalencia de SM en mujeres posmenopáusicas del 13.6 % de acuerdo a los criterios de la OMS y un 26.6% a los de ATP III esto refleja un gran problema de salud, en este grupo etario. (214)

En nuestro trabajo, encontramos que la prevalencia de SM en mujeres con un rango de edad de 45-65 años fue 27.08 % cifra muy similar a la que se ha reportado a la literatura utilizando los criterios del ATP III.

Coca y cols., en el 2006 refieren que los 3 componentes más frecuentes en la población mexicana son: obesidad abdominal, disminución del HDL-colesterol y la HTA, muy similar a la población española que presentó: hipertrigliceridemia, obesidad central e hiperglucemia. Sin embargo, al diferenciarlos por sexo se encontró que éste es el patrón de frecuencia para los hombres, ya que en las mujeres los más comunes son: obesidad abdominal, hiperglucemia y disminución del HDL-colesterol. Quizá el grupo femenino es el que más influye en la alta prevalencia en las encuestas nacionales, favorecido por el hecho de que en las mujeres la concentración de corte para este componente es colesterol HDL menor o igual a 50 mg/dL. (215)

En el presente trabajo, la frecuencia de los componentes del SM en la población fueron: circunferencia de cintura (58.33%), el HDL-colesterol (47.92%), triglicéridos (31.25%), glucosa (12.50%) y presión arterial (4.17%).

El IMC en la población en estudio fue de  $27.79 \pm 6.96$  en premenopáusicas y  $27.91 \pm 4.96$  en posmenopáusicas. Estos datos muestran que las pacientes tenían obesidad grado I, en

ambos grupos, condición que se presenta por el aumento de peso que se genera en la menopausia, así, como el cambio en su distribución por el déficit estrogénico. Además, cabe resaltar que la mayoría de las pacientes no realizan actividad física y tienen malos hábitos alimenticios, que son factores que contribuyen al desarrollo de obesidad.

La ganancia de peso durante la menopausia y su distribución de grasa de tipo abdominal, esta asociada con alteraciones en el metabolismo de los lípidos y la IR. (216-217). Otros estudios en modelos animales han aportado evidencias sobre mecanismos complejos que involucran al hueso y tejido adiposo en la homeostasis de la glucosa. (218)

Sin embargo, en estudios recientes se ha observado que la osteocalcina, una proteína que está implicada en la formación del hueso, tiene también relación con hormonas reguladoras del calcio y que ha sido implicada en el metabolismo energético.

En estudios clínicos se han reportado asociaciones entre la osteocalcina sérica, la obesidad abdominal y alteraciones en el metabolismo. Además, otros autores han reportado que los niveles séricos de osteocalcina se correlacionan inversamente con IMC, triglicéridos, glucosa y síndrome metabólico en algunos grupos étnicos. (219) (Sukwoo lee, 2012)

Los valores normales de osteocalcina para mujeres premenopáusicas son de 12 - 41ng/mL y 20 - 48ng/mL para mujeres posmenopáusicas sin terapia de reemplazo hormonal.

Las concentraciones de osteocalcina reportadas para las pacientes con diagnóstico de SM son más bajas que para las pacientes sin SM. En la población de estudio, nosotros obtuvimos concentraciones de 5.54ng/dL en mujeres premenopáusicas en comparación con las mujeres posmenopáusicas que fueron de 6.49ng/dL. Cabe mencionar que debemos tener en cuenta algunos otros factores que pueden influir en las concentraciones de osteocalcina como son: el ejercicio, el IMC y la terapia de reemplazo hormonal.

Por otro lado, las alteraciones en la homeostasis en el SM favorecen un estado protrombótico que incluye modificaciones en el sistema de coagulación, fibrinólisis y plaquetas. Entre las que podemos mencionar: la disfunción endotelial, lesiones aterogénicas e hipercoagulabilidad (220).

Se ha observado en individuos con SM que presentan un elevado riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, o que se han asociado a un incremento en los niveles del factor de Von Willebrand, fibrinógeno, PAI-1 y factor VII. El PAI-1 es una proteína del sistema fibrinolítico, sintetizado principalmente por hepatocitos y diversos tipos celulares como las plaquetas, células endoteliales, placenta, células del músculo liso vascular, tejido adiposo y en los monocitos. (221-223)

El PAI-1 es proteína que presenta elevados niveles plasmáticos en la aterosclerosis (224-225), lo que sugiere que la síntesis local de PAI-1 en células endoteliales y de músculo liso, (226) se incrementa también en enfermedad cardiovascular, trombosis y SM.

El incremento del PAI-1, se ha asociado con distintos componentes del SM, como el Índice de Masa Corporal (IMC) (227-230), la hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia (231-232), la

HTA (233). Además se ha demostrado la relación entre el número de componentes del SM y la concentración de PAI-1. (234-239)

Por otro lado, los elevados niveles plasmáticos de PAI-1 se han relacionado con el SIR, con la dislipidemia, la intolerancia a la glucosa, la obesidad, la hiperinsulinemia y HTA. (240)

En nuestro trabajo se determinaron las concentraciones plasmáticas de PAI-1 y al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas. Al realizar un subanálisis entre las mujeres posmenopáusicas con y sin SM encontramos diferencias significativas ( $p < 0.08$ ), encontrando concentraciones más bajas en mujeres posmenopáusicas con SM.

Algunos estudios clínicos muestran que la actividad fibrinolítica baja, se relaciona con los niveles plasmáticos elevados de PAI-1 y se ha documentado en los sujetos que desarrollaron un infarto agudo del miocardio (IAM).

Entre los hallazgos característicos de esta asociación se encuentran la elevación del PAI-1, que se produce de manera predominante en los adipocitos viscerales, y se correlacionan con los eventos trombóticos y cardiovasculares.

En el grupo de edad de los 50 a los 64 años, las mujeres presentan un aumento considerable en el riesgo cardiovascular. (241). Este cambio en el perfil de riesgo cardiovascular coincide con el climaterio y se caracteriza por el surgimiento o el aumento de algunos factores de riesgo como: obesidad central, hipertensión arterial sistémica y dislipidemia. (242)

Se ha demostrado que el incremento en los niveles de PAI-1 se asocia con los de insulina y se ha observado que los pacientes con SM presentaban niveles aumentados de PAI-1 comparados con sujetos sanos, por lo que la disminución en las concentraciones plasmáticas de estas proteínas en los pacientes con SM, podría ser un mecanismo relacionado con la prevención o desarrollo de DM2 y enfermedades cardiovasculares. (243-246)

La importancia de realizar este estudio en mujeres de este grupo etario (45-65 años) radica en que las mujeres de este intervalo de edad se encuentran en la transición a la menopausia, esto implica cambios metabólicos y hormonales. Estos cambios se relacionan con factores de coagulación y fibrinólisis. Sin embargo, este estudio nos aporta datos importantes sobre las posibles interacciones sobre los factores de riesgo y los factores que pueden ser modificables para evitar un evento trombótico, o en el caso de la osteocalcina que se ha establecido como un marcador de riesgo cardiometabólico; esto implica que al encontrarse elevada, puede ser un predictor para desarrollar en un futuro diabetes, HTA o evento cardiovascular.

### 13. CONCLUSIONES

---

Las medidas antropométricas, determinaciones bioquímicas y los criterios de la IDF, nos permitieron establecer una elevada prevalencia de SM, en nuestro grupo de estudio.

Se encontró una prevalencia de SM del 27.08 % en las mujeres en estudio, cifra muy similar a la reportada a nivel nacional.

El sobrepeso presente en la población de mujeres posmenopáusicas es 41.67 % y este es un factor predisponente para presentar alteraciones cardiometabólicas.

Las mujeres posmenopáusicas con diagnóstico de SM reportaron concentraciones de OCN elevadas en comparación con las que no tenían este diagnóstico. Sin embargo, esta elevación puede estar condicionada a factores como son la dieta, el ejercicio y el estado hormonal.

En el grupo de pacientes posmenopáusicas con diagnóstico de SM se encontraron concentraciones elevadas de PAI-1, por lo tanto estas pacientes son un grupo susceptible de padecer un evento trombótico, por lo tanto enfermedad cardiovascular.

La elevación del PAI-1, sumado a otros factores como los malos hábitos alimenticios, el sedentarismo, cambios hormonales y metabólicos que se presentan en la menopausia, pueden condicionar la presencia de riesgo cardiovascular en este grupo étnico.

#### BIBLIOGRAFIA:

---

1. Dra. Ana Liz Rodríguez Porto, Dra. Mayra Sánchez León y Dr. Leonardo L. Martínez Valdés. Síndrome metabólico. Rev Cubana Endocrinología 2002; 13(3):238-52.
2. <http://www.geosalud.com/diabetesmellitus/smetabolico2.htm>
3. Arturo Jiménez-Cruz, Rosa Martha Velasco-Martínez, Montserrat Bacardí-Gascón, Fátima Higuera Domínguez, Enrique Domínguez de la Piedra. **HOMA-IR, síndrome metabólico y hábitos dietéticos en adolescentes de Chiapas, México.** Rev Biomed 2009; 20:82-88
4. <http://www.questdiagnostics.com.mx/pdf/questinforma/metabolico.pdf>
5. Horacio Carbajal y Martín R. Salazar, Síndrome metabólico: aspectos clínicos y su tratamiento.
6. Dorantes Cuellar, Alicia Y. Martínez Sibaja, Cristina. Guzmán Blanco, Agustín. Endocrinología Clínica. 3° edición. Editorial El manual moderno. Págs. 321-334. 2008.
7. Raúl Carrillo Esper, Martín de Jesús Sánchez Zúñiga. Síndrome metabólico.
8. Dr. Alberto Maiz G. El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. Pediatría Integral 2007; XI (7):615-622.
9. <http://www.geosalud.com/diabetesmellitus/smetabolico2.htm>
10. Yanik Rodríguez Enríquez. Interpretaciones recientes sobre el metabolismo lipídico en la resistencia a la insulina. Revista Cubana Alimento Nutrición. 2002; 16(1):54-62
11. Eduardo García-García, M Esp; Manuel De la Lata-Romero. La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión. Salud pública México vol. 50 no. 6 Cuernavaca, 2008.
12. María del mar Egea Gil. Obesidad, marcadores inflamatorios y síndrome metabólico en niños de la zona de úbeda (jaén). Editorial de la universidad de granada 2008.
13. José Alberto Colorado Lara/ Heidi Cruz Pérez. El síndrome metabólico y su riesgo cardiovascular ¿Por qué identificarlo y tratarlo oportunamente? Salud en Tabasco, 2006. núm.001. pp. 433-439
14. Manuel Ros Pérez y Gema Medina-Gómez. Enfermedad cardiovascular y metabolismo óseo. Publicado por Elsevier España, S.L. 2011.
15. Ross, Michael H. HISTOLOGÍA Texto y Atlas color con biología Celular y Molecular. 5° ed. Editorial Médica Panamericana. 2007. Pág.: 403-411
16. Ulrich Welsch, Johannes Sobotta. Histología. 2°ed. Editorial Médica Panamericana. 2010. Pág.: 235-248
17. Ma. Amaya Aleixandre de Artiñao, Ana Isabel Ortega Mateo. Función y disfunción endotelial. Editorial Complutense. 2000. Pág. 1-3
18. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. Ann Intern Med 1994; 120:227-37.



19. Shah AM, Grocott-Mason RM, Pepper CB, Mebazaa A, Henderson AH, Lewis MJ, et al. The cardiac endothelium: cardioactive mediators. *Prog Cardiovasc Dis* 1996; 39:263-84.
20. Quyyumi A. A, Dakak N, Andrews NP, Gilligan DM, Panza JA, Cannon RO. Contribution of nitric oxide to metabolic coronary vasodilatation in the human heart. *Circulation* 1995; 92:320-6.
21. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105:546-9.
22. Epstein SE, Cannon RO III. Site of increased resistance to coronary flow in patients with angina pectoris and normal epicardial coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1986; 8:459-61.
23. Cannon RO III, Schenke WH, Leon MB, Rosing DR, Urquhart J, Epstein SE. Limited coronary flow reserve after dipyridamole in patients with ergonovine-induced vasoconstriction. *Circulation* 1987; 75:163-74.
24. Tousoulis D, Davies GJ, Asimakopoulos G, Homaei H, Zouridakis E, Ahmed N, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 serum level in patients with chest pain and normal coronary arteries (syndrome X). *Clin Cardiol* 2001; 24:301-4.
25. Bøtker HE, Ingerslev J. Plasma concentrations of von Willebrand factor in patients with angina pectoris secondary to coronary atherosclerosis or cardiac syndrome X. *Thromb Res* 2000; 97:519-23.
26. Geltmen EM, Henes CG, Senneff MJ, Sobel BE, Bergman SR. Increased myocardial perfusion at rest and diminished perfusion reserve in patients with angina and angiographically normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16:586-95.
27. Galassi AR, Crea F, Araujo LI, Lammertsma AA, Pupita G, Yamamoto Y. Comparison of regional myocardial blood flow in syndrome X and one-vessel coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1993; 72:134-9.
28. Rosen SD, Osen NG, Kaski JC, Tousoulis D, Davies GS, Camici PG. Coronary vasodilator reserve, pain perception, and sex in patients with syndrome X. *Circulation* 1994;90:50-60.
29. Meeder JG, Blanksma PK, Van der Wall EE, Willemsen TM, Pruijm J, Anthonio RL, et al. Coronary vasomotion in patients with syndrome X: evaluation with positron emission tomography and parametric myocardial perfusion imaging. *Eur J Nucl Med* 1997; 24:530-7.
30. Bøttcher M, Bøtker HE, Sonne H, Nielsen TT, Czernin J. Endothelium dependent and independent perfusion reserve and the effect of L-arginine on myocardial perfusion in patients with syndrome X. *Circulation* 1999; 99: 1795-801.
31. Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Yamada A, Urabe Y, Takeshita A. Evidence of impaired endothelium-dependent coronary vasodilatation in patients with angina pectoris and normal coronary angiograms. *N Engl J Med* 1993; 328:1659-64.
32. Quyyumi AA, Cannon RO, Panza JA, Diodati JG, Epstein SE. Endothelial dysfunction in patients with chest pain and normal coronary arteries. *Circulation* 1992; 86:1864-71.

33. Bøtker HE, Møller N, Ovesen P, Mengel A, Schitz O, Orskov H, et al. Insuline resistance in microvascular angina (syndrome X). *Lancet* 1993; 342:136-40.
34. Buchthal SD, Den Hollander JA, Merz CNB, Rogers WJ, Pepine CJ, Reichek N, et al. Abnormal myocardial phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy in women with chest pain but normal coronary angiograms. *N Engl J Med* 2000; 342:829-35.
35. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 4:287-324.
36. Kaski JC, Rosano GM, Collins P, Nihoyannopoulos P, Maseri A, Poole-Wilson PA. Cardiac syndrome X: clinical characteristics and left ventricular function. Long term follow-up study. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25:807-14.
37. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Mattei P, Sudano I, Bernini G, et al. Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. *Hypertension* 1996; 28:576-82.
38. Eugenia Vázquez-Rey y Juan Carlos Kaski Síndrome X cardiovascular y disfunción endotelial Coronary Artery Disease Research Unit. Department of Cardiological Sciences, St. George's Hospital Medical School. Londres. Reino Unido *Rev Esp Cardiol* 2003; 56(2):181-92.
39. Mario A. Dvorkin, Daniel P. Cardinali, Roberto H. Lermoli. Best y Taylor Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. 14ª edición en español. Editorial Médica Panamericana. 2010. Pág.: 70-86.
40. <http://enciclopedia.us.es/index.php/Aterosclerosis>
41. X. Fuentes Arderiu, M. J. Castiñeras Lacambra, J. M. Queraltó Compañó. *Bioquímica Clínica y Patología Molecular Vol II*. 2ª edición. Editorial Reverté, S. A. 1998. Pág.: 683-686.
42. Daniel, Piñeiro. Bustamante Labarta, Guevara. Migliore. Risibinblit. *Ecografía para la toma de decisiones clínicas*. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 2005. Pág. 1006.
43. J. Aranceta. M, Foz. B, Gil. E, Jover. T, Mantilla. J, Millán. S, Monereo. B, Moreno. *Dieta y Riesgo Cardiovascular Estudio DORICA II*. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 2007. Pág.: 29-31.
44. Sandra Quintana-González. *Actualidades en hemostasia Gaceta Médica de México Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Banco Central de Sangre, CMN Siglo XXI, IMSS. México, D.F. 2002 Volumen 138 Suplemento 1*.
45. Quintana GS, Martínez MC, Ambríz F Raúl, Martínez-Murillo C, Quintana GS, Ambríz FR, Kasper C, *Fisiología de la coagulación. Hemofilia en México Ed. Prado. 2001. p. 19-42*.
46. Quintana GS, Martínez MC. *Fisiología de la hemostasia secundaria en México. Manual de hemostasia y trombosis. Editorial Prado; 1996. p. 23-48*.
47. Miale JB. Hemostasis and blood coagulation. In: *Laboratory medicine hematology*. 3rd ed. St. Louis, The CV Mosby Company; 1967. p. 999.
48. Waaler BA. Simultaneous contribution to the formation of thrombin by the intrinsic and extrinsic blood clotting systems. *Scand J Clin Lab Invest* 1957; 9:322-330.

49. MacFarlane RG. An enzyme cascade in blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier. *Nature* 1964; 202:498-499.
50. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science* 1964; 145:1310-1312.
51. Martínez-Murillo C, Quintana González S. Fisiología de la hemostasia primaria. *Manual de hemostasia y trombosis*. México, D.F.: Editorial Prado; 1996. p. 5-22.
52. Quintana-González S, Martínez-Murillo C. Fisiología de la hemostasia secundaria. *Manual de hemostasia y trombosis Proteína Z, TAFI y Anexinas como proteínas reguladoras de la coagulación sanguínea*. México, D.F.: Editorial Prado; 1996. p. 23-48.
53. Dahlbäck B. Blood coagulation. *The Lancet* 2000; 355:1627- 1632.
54. Carlos Martínez-Murillo. Actualidades en hemostasia *Gaceta Médica de México* 2002 Volumen 138 Suplemento 1. Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Clínica de Hemostasia y Trombosis, Servicio de Hematología (Unidad 103 y 204), Hospital General de México.
55. MacFarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier. *Nature*. 1994; 202:98-9.
56. Schafer AI. Coagulation cascade: an overview. En: Loscalzo J, Schafer AI, editores. *Thrombosis and hemorrhage*. Boston: Blackwell Scientific; 1994. p. 3-12.
57. Monroe DM, Roberts HR. Hoffman M. Platelet coagulation complex assembly in a tissue-factor initiated system. *Br J Haemat*. 1994; 88:364-71.
58. Caterina RD, Husted S, Wallentin L, Agnelli G, Bachmann F, Baigent C, et al; for the Task Force of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2007; 28: 880-913.
59. Francisco Pérez-Gómez y Ramón Bover. La nueva cascada de la coagulación y su posible influencia en el difícil equilibrio entre trombosis y hemorragia. *Rev Esp Cardiol*. 2007; 60(12):1217-9.
60. M<sup>a</sup> Luz Juan Marco. Ana I. Rosell Mas. F. Javier Rafecas Renau. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. Hemostasia y trastornos hemorrágicos. *Brasil*, 43-13<sup>a</sup>. 46018-Valencia
61. Irma Isordia-Salas Asociación entre el polimorfismo 4G/5G en el gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y el infarto agudo de miocardio con elevación del ST en pacientes jóvenes. *Rev Esp Cardiol*. 2009; 62(4): 365-72
62. Liu Y. Regulation of the plasminogen activator system in the ovary. *Biol Signals Recept* 1999; 8: 160-177.
63. Bodary P, Wickenheiser K, Eitzman D. Recent advances in understanding endogenous fibrinolysis: implications for molecular-based treatment of vascular disorders. *Expert Rev Mol Med* 2002; 4:1-10
64. Andreasen P, Kjoller L, Christensen L et al. The urokinasa type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer* 1997; 72: 1-22
65. Bachmann F, Kruihof E. Tissue plasminogen activator, chemical and physiological aspects. *Semin Thromb Hemost* 1984; 10: 17
66. <http://sindromeantifosfolipido.blogspot.com/2004/06/actividad-del-activador-inhibidor-de.html>

67. Nolasco et al, *Cancerología* 2. Activación del Sistema Plasminógeno-Plasmina y el Papel de PAI-1 en Patologías Humanas. Laboratorio de Oncología Genómica, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, UMAE Hospital de Oncología, CMN Siglo XXI-IMSS, México. (2007): 171-183.
68. Mertens I, Van Gaal LF. Visceral fat as a determinant of fibrinolysis and hemostasis. *Semin Vasc Med* 2005; 5: 48 -55.
69. Palomo I, Gutiérrez C, Alarcón M, Jaramillo J, Segovia F, Leiva E, et al. Increased Concentration of Plasminogen Activator Inhibitor-1 and fibrinogen in Individuals with metabolic syndrome. *Molecular Medicine Reports*. 2009; 2: 253-7.
70. Devaraj S, Rosenson RS, Jialal I. Metabolic syndrome: an appraisal of the proinflammatory and procoagulant status. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; 33: 431-53.
71. Isezuo SA. The metabolic syndrome: Review of current concepts. *Niger Postgrad Med J* 2006; 13: 247-55.
72. Skurk T, Hauner H. Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 1357-64.
73. Aso Y. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis. *Front Biosci* 2007; 12: 2957-66.
74. Aso Y, Wakabayashi S, Yamamoto R, Matsutomo R, Takebayashi K, Inukai T. Metabolic syndrome accompanied by hypercholesterolemia is strongly associated with proinflammatory state and impairment of fibrinolysis in patients with type 2 diabetes: synergistic effects of plasminogen activator inhibitor-1 and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor. *Diabetes Care* 2005; 28: 2211-6.
75. Kinik ST, Ozbek N, Yuce M, Yazici AC, Verdi H, Atac FB. PAI-1 gene 4G/5G polymorphism, cytokine levels and their relations with metabolic parameters in obese children. *Thromb Haemost* 2008; 99: 352-6.
76. Carter AM, Cymbalista CM, Spector TD, Grant PJ; Euro CLOT Investigators. Heritability of clot formation, morphology, and lysis: the Euro CLOT study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2783-9.
77. Collet JP, Allali Y, Lesty C, Tanguy ML, Silvain J, Ankri A, et al. Altered fibrin architecture is associated with hypofibrinolysis and premature coronary atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2567-73.
78. Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2200-7.
79. Santos MT, Aranda E, Vallés J, Palomo I. Hemostasia Primaria. En: Palomo I, Pereira J, Palma J, eds. *Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico*. Talca: Editorial Universidad de Talca; 2005.cap.19.
80. Trovati M, Anfossi G. Insulin, insulin resistance and platelet function: similarities with insulin effects on cultured vascular smooth muscle cells. *Diabetologia* 1998; 41: 609-22.
81. Anfossi G, Trovati M. Pathophysiology of platelet resistance to anti-aggregating agents in insulin resistance and type 2 diabetes: implications for anti-aggregating therapy. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2006; 4: 111-28.

82. Davi G, Guagnano MT, Ciabattone G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA* 2002; 288: 2008-14.
83. Trovati M, Anfossi G. Influence of insulin and of insulin resistance on platelet and vascular smooth muscle cell function. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 35-40.
84. Arteaga RB, Chirinos JA, Soriano AO, Jy W, Horstman L, Jimenez JJ, et al. Endothelial microparticles and platelet and leukocyte activation in patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2006; 98: 70-4.
85. Basili S, Pacini G, Guagnano MT, Manigrasso MR, Santilli F, Pettinella, et al. Insulin resistance as a determinant of platelet activation in obese women. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 2531-8.
86. Andres E, Goichot B. Metabolic syndrome and venous thrombosis: potential role of microparticles. *Haematologica* 2007; 92: 64-5.
87. Darvall KA, Sam RC, Silverman SH, Bradbury AW, Adam DJ. Obesity and thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007; 33: 223-33.
88. Podrez EA, Byzova TV, Febbraio M, Salomon RG, Ma Y, Valiyaveetil M, et al. Platelet CD36 links hyperlipidemia, oxidant stress and a prothrombotic phenotype. *Nat Med* 2007; 13: 1086-95.
89. Valiyaveetil M, Kar N, Ashraf MZ, Byzova TV, Febbraio M, Podrez EA. Oxidized high-density lipoprotein inhibits platelet activation and aggregation via scavenger receptor BI. *Blood* 2008; 111: 1962-71.
90. Tavit Y, Sen N, Yazici HU, Hizal F, Abaci A, Cengel A. Mean platelet volume in patients with metabolic syndrome and its relationship with coronary artery disease. *Thromb Res* 2007; 120: 245-50.
91. Englyst NA, Taube JM, Aitman TJ, Baglin TP, Byrne CD. A novel role for CD36 in VLDL-enhanced platelet activation. *Diabetes* 2003; 52: 1248-55.
92. Gualillo O, González-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17: 275-83.
93. Kato H, Kashiwagi H, Shiraga M, Tadokoro S, Kamae T, Ujii H, et al. Adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 224-30.
94. Elbatarny HS, Netherton SJ, Ovens JD, Ferguson AV, Maurice DH. Adiponectin, ghrelin, and leptin differentially influence human platelet and human vascular endothelial cell functions: implication in obesity-associated cardiovascular diseases. *Eur J Pharmacol* 2007; 558: 7-13.
95. Von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. *Circ Res* 2007; 100: 27-40.
96. Beltowski J. Leptin and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 189: 47-60.
97. Konstantinides S, Schäfer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest* 2001; 108: 1533-40.

98. Konstantinides S, Schafer K, Loskutoff DJ. The prothrombotic effects of leptin possible implications for the risk of cardiovascular disease in obesity. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 947: 134-41.
99. Elbatarny HS, Maurice DH. Leptin-mediated activation of human platelets: involvement of a leptin receptor and phosphodiesterase 3A-containing cellular signaling complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289: 695-702.
100. Giandomenico G, Dellas C, Czekay RP, Koschnick S, Loskutoff DJ. The leptin receptor system of human platelets. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1042-9.
101. Siegel-Axel DI, Gawaz M. Platelets and endothelial cells. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33: 128-35.
102. Lindemann S, Krämer B, Daub K, Stellos K, Gawaz M. Molecular pathways used by platelets to initiate and accelerate atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 566-73.
103. Palomo I, Toro C, Alarcón M. Rol of the platelets in the pathophysiology of atherosclerosis. *Molecular Medicine Reports* 2008; 1: 179-84.
104. Mueller A, Meiser A, McDonagh EM, Fox JM, Petit SJ, Xanthou G, et al. CXCL4-induced migration of activated T lymphocytes is mediated by the chemokine receptor CXCR3. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 875-82.
105. Schober A, Zerneck A. Chemokines in vascular remodeling. *Thromb Haemost* 2007; 97: 730-7.
106. Schober A, Manka D, von Hundelshausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, et al. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002; 106: 1523-9.
107. Tang J, Kozaki K, Farr AG, Martin PJ, Lindahl P, Betsholtz C, et al. The absence of platelet-derived growth factor-B in circulating cells promotes immune and inflammatory responses in atherosclerosis-prone ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Am J Pathol* 2005; 167: 901-12.
108. Baltus T, von Hundelshausen P, Mause SF, Buhre W, Rossaint R, Weber C. Differential and additive effects of platelet-derived chemokines on monocyte arrest on inflamed endothelium under flow conditions. *J Leukoc Biol* 2005; 78: 435-41.
109. Sakkinen PA, Wahl P, Cushman M, Lewis MR, Tracy RP. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 897-907.
110. Lindemann S, Krämer B, Seizer P, Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 203-11.
111. May AE, Langer H, Seizer P, Bigalke B, Lindemann S, Gawaz M. Platelet leukocyte interactions in inflammation and atherothrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33: 123-7.
112. Iván Palomo, Rodrigo Moore-Carrasco, Marcelo Alarcón, Armando Rojas, Verónica Mujica, Sandra Hasbun. Fisiopatología del estado protrombótico en el síndrome metabólico *Acta Médica Colombiana Talca, Chile*. Vol. 34 N° 2009.

113. Burger HG, Hale GE, Dennerstein L, Robertson DM. Cycle and hormone changes during perimenopause: the key role of ovarian function. *Menopause* 2008; 15(4):603-12.
114. Oldenhave A, Netelembos C. Pathogenesis of climateric complaints: ready for the change? *Lancet* 1994; 343:649-653.
115. Al-Azzawi F. Endocrinological aspects of the menopause. *Br Med Bull* 1992; 48:262-275.
116. Khaw KT. Epidemiology of the menopause. *Br Med Bull* 1992; 48:249-261.
117. Rozenberg S, Bosson D, Peretz A, Caufriez A, Robyn C. Serum levels of gonadotrophins and steroid hormones in the post-menopause and later life. *Maturitas* 1988; 10:215-224.
118. Dawood MY, Tidey GF. Menopause current problems in obstetrics. *Gynecol Fertil* 1993; 16:169-208.
119. Upton GV. The perimenopause: physiologic correlates and clinical management. *J Reprod Med* editorial comment 1982; 27:1-27, 27-28.
120. Metcalf MG, Donald RA, Livesey JH. Pituitary-ovarian function before, during and after the menopause: a longitudinal study. *Clin Endocrinol* 1982; 17:489-494.
121. Vagenakis AG. Endocrine aspects of menopause. *Clin Rheumatol* 1989; 8 (suppl 2): 48-51.
122. Chakravarti S, Collins WP, Forecast JD, Newton JR, Oram DH, Studd JW. Hormonal profiles after the menopause. *Br Med J* 1976; ii: 784-787.
123. Nordin BEC, Crilly RG, Marshall DH, Barkworth SA. Oestrogens, the menopause and the adrenopause. *J Endocrinol* 1981; 89:131-143.
124. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 4a ed. New York: Williams and Wilkins, 1989:121-163.
125. Sowers MR, La Pietra MT. Menopause: its epidemiology and potential association with cronic diseases. *Epidemiologic Reviews* 1995; 17:287-301
126. Okonofua FE, Lawal A, Bamgbose JK. Features of menopause age in Nigerian women. *Int J Gynecol Obstet* 1990; 31:341-345.
127. Kwawukume EY, Ghosh TS, Wilson JB. Menopausal age of Ghanaian women. *Int J Gynecol Obstet* 1993; 40:151-155.
128. Lock M. Contested meanings of the menopause. *The Lancet* 1991; 337:1270-1272.
129. Jazsmann L, Van Lith ND, Zaat JLA. The perimenopausal symptoms: The statistical analysis of a survey. *Med Gynaecol Sociol* 1969; 4:268-277.
130. Semmens JP, Wagner G. Estrogen deprivation and vaginal function in postmenopausal women. *JAMA* 1982; 248:445-448.
131. Greene JG. The social and psychological origins of the climateric syndrome. Aldershot: Gower, 1984.
132. Thompson B, Hart SA, Durno D. Menopausal age and symptomatology in a general practice. *J Biosoc Sci* 1973; 5:71-82

133. Dra. Erika Jeancarla Rocabado Urquieta. Dra. Mabel Ivone Rocha Soria. Dr. Christian Mauricio Rivera Rojas. Dra. Martha Morales Clavijo. Síndrome metabólico en la menopausia. Rev. méd. (Cochabamba) v.18 n.28 Cochabamba. 2007
134. Chu MC, Cosper P, Orio F, Carmina E, Lobo RA. Insulin resistance in postmenopausal women with metabolic syndrome and the measurements of adiponectin, leptin, resistin, and ghrelin. Am J Obstet Gynecol 2006; 194: 100-4.
135. Kannel WB, Wilson PW. Risk factors that attenuate the female coronary disease advantage. Arch Intern Med 1995; 155: 57-61.
136. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. Arch Intern Med 2003; 163: 427-36.
137. Faloia E, Camilloni MA, Giacchetti G, Mantero F. Adipose tissue as an endocrine organ? A review of some recent data. Eating Weight Disord 2000; 5: 116-123.
138. Sergio A Godínez Gutiérrez, Gloria E Marmolejo Orozco, Eduardo Márquez Rodríguez, José de Jesús Siordia Vázquez, Raymundo Baeza Camacho. La grasa visceral y su importancia en obesidad Revista de Endocrinología y Nutrición Vol. 10, No. 3 Julio-Septiembre 2002 Págs. 121-127
139. Dieudonne M, Pecquery R, Boumediene A, Leneuve M, Giudicelli Y. Androgen receptors in human preadipocytes and adipocytes: regional specificities and regulation by sex steroids. Am J Physiol 1998; 274: C1645-C1652.
140. Montague CT, O'Rahilly SO. Causes and consequences of visceral adiposity: The perils and portliness. Diabetes 2000; 49 (6).
141. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Digby JE, O'Rahilly S. Depot and sex-specific differences in human leptin mRNA expression. Diabetes 1997; 46: 342-347.
142. Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, Maeda K, Kotani K, Nakamura T, Yamashita S, Miura M, Fukuda Y, Takemura K, Tokunaga K, Matsuzawa Y. Enhanced expression of PAI-1. In visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. Nat Med 1996; 2: 800-803.
143. Poehlman ET, Goran MI, Gardner AW, Ades PA, Arciero PJ, Katzman-Rooks SM, et al. Determinants of decline in resting metabolic rate in aging females. Am J Physiol 1993; 264: E450-5.
144. Ana Alonso García, Plácido Llana Coto, Celestino González González. Síndrome metabólico, obesidad y terapia hormonal de sustitución. Revista Española de Obesidad Vol. 6. Núm. 6. 2008 (340-350)
145. Ley CJ, Stevenson JC. Sex and menopause. Associated changes in body fat distribution. Am J Clin Nutr 1992; 55 950-954.
146. Adams MP, Kaplan JR, Manuck SB y col. Inhibition of coronary atherosclerosis by 17-beta estradiol in ovariectomized monkeys. Lack of an effect of added progesterone. Arteriosclerosis 1990; 10: 151 .
147. Palmira Pramparo, Maria E. Urthiague, Gusta Romera, Marcelo Lavorato, Alejandro Menzio, Juan Mural, Enrique Balestrini°, et. al. La menopausia como factor



- de riesgo cardiovascular: valoración del tratamiento de sustitución hormonal Revista Argentina De Cardiología, 1998, Vol. 66, N° 1
148. Wenger N, Gerwitz G, Knopp G, Rosenberg L, Shangold M, Stefanick M. Preventing CHD in women: A clinical challenge. Menopause Management 1994; 3 (4): 12-23.
  149. Kannel WB, Wilson P. The epidemiology of impaired glucose tolerance and hypertension. Am Heart J 1991; 121: 1268-1273.
  150. Villeco AS, De Aloysio D. High blood pressure and ischaemic. ECG patterns in climateric women. Maturitas 1983; 5:89-97.
  151. Renard E, Bringer J. Steroides sexueles. Effets sur le metabolisme hydrocarbons avant et apres la menopause. Presse Med 1993; 22: 431-435
  152. Schoenberger JC. Smoking change in relation to changes in blood pressure, weight and cholesterol. Prev Med 1982; 11: 441-453.
  153. Croft P, Hannoford P. Risk factors for acute myocardial infarction in women: evidence from the Royal College of General Practitioner's oral contraceptive study. Br Med J 1989; 298:165-168.
  154. Smith Sc Jr, Greenland P, Grundy SM. Aha Conference Proceedings. Prevention conference V: Beyond secondary prevention: Identifying the high-risk patient for primary prevention: executive summary. American Heart Association. Circulation 2000; 101: 111-116.
  155. Chambless Le, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. Am J Epidemiol 1997; 146: 483-494.
  156. Mannami T, Konishi M, Baba S, Nishi N, Terao A. Prevalence of asymptomatic carotid atherosclerotic lesions detected by high-resolution ultrasonography and its relation to cardiovascular risk factors in the general population of a Japanese city: the Suita study. Stroke 1997; 28: 518-525.
  157. O'leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Kitinner SJ, Bond MG, Wolfson SK Jr, et al. Distribution and correlates of sonographically detected carotid artery disease in the Cardiovascular Health Study. The CHS Collaborative Research Group. Stroke 1992; 23: 1752-1760.
  158. Poli A, Tremoli E, Colombo A, Sirtori M, Pignoli P, Paoletti R. Ultrasonographic measurement of the common carotid artery wall thickness in hypercholesterolemic patients. A new model for the quantitation and follow-up of preclinical atherosclerosis in living human subjects. Atherosclerosis 1988; 70: 253-261.
  159. Hodis HN, Mack WJ, Labree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. Ann Intern Med 1998; 128: 262-269.
  160. O'leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK JR. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. N Eng J Med 1999; 340: 14-22.

161. Mónica Acevedo, Pilar Arnaíz, Ramón Corbalán, Iván Godoy, Daniel Morales, Mónica Chalhub, et. al. Modificación del grosor íntima-media carotídeo según factores de riesgo clásicos y síndrome metabólico con o sin inflamación Pontificia Universidad Católica de Chile Rev Chil Cardiol 2009; 28: 337-348
162. Hahn B H. Osteopenic bone disease. En Koopman WJ, editor. Arthritis and allied conditions. A textbook of Rheumatology 13th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997; 2203-2231.
163. Rubin CT, Sledge CB. Biology, physiology and morphology of bone. En Sledge CB, Ruddy S, Harris ED Jr. Kelley WN, eds. Arthritis surgery. Philadelphia: WB Saunders; 1994; 71-93.
164. Garavito XA, Pinzón F, Ardila E. El osteoblasto. Boletín ACOMM. 2000; 9-12.
165. Tanaka Y, Morimoto. Osteoblasts are regulated by the cellular adhesión through ICAM-1 and VCAM-1. J Bone Min Res 1995; 10: 1462-1468.
166. Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor KB ligand in the patogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2001; 44: 253-259.
167. Cañas CA, Iglesias A. Fisiopatología de la osteoporosis. En Ardila E, Mautalen CA. eds. Osteoporosis en Iberoamérica. Santafé de Bogotá: Vesalius; 2000; 23-34.
168. Cañas Dávila Carlos Alberto. Fisiopatología del recambio óseo. Revista colombiana de Menopausia. Vol. 8 Núm. 1. 2002
169. Compston JE. Sex steroids and bone. Physiol Rev 2001; 81:419-47.
170. Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, Soballe K, Eriksen EF, Bunger C. Chemotaxis of human osteoblasts. Effects osteotropic growth factors. APMIS 1995; 103:140-6.
171. Isabel Fernández-Tresguerres. Hernández-Gil, Miguel Angel. Alobera Gracia, Mariano del Canto. Pingarrón, Luis Blanco Jerez. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11:E151-7.
172. Grant SFA, Ralston SH. Genes and osteoporosis. Endocrinology 1997; 8:232-9.
173. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Ebery S. Genetic determinants of bone mass in adults. J Clin Invest 1987; 80:706-10.
174. Morey ER, Baylink JJ. Inhibition of bone formation during space flight. Science 1978; 19:172-6.
175. Trueta J. The role of blood vessels in osteogenesis. J Bone Joint Surg Br 1963; 45:402.
176. Ham AW. Some histophysiological problems peculiar to calcified tissue. J Bone Joint Surg Am 1952; 34:701.
177. Prieto S. Control del metabolismo del calcio, fósforo y magnesio. En: Tresguerres JAF, ed. Fisiología Humana, 2ª edición. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 1999. p. 979-93.
178. Raisz LG. Bone cell biology: New approaches and unanswered questions. J Bone Miner Res 1993; 8:457-65.

179. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140:4367-70.
180. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21:115-37.
181. Lukert BP, Kream BE. Clinical and basic aspects of glucocorticoid action in bone. En: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of Bone Biology*. San Diego, California: Academic Press; 1996.p.533-48.
182. Harvey S, Hull KL. Growth hormone: A paracrine growth factor? *Endocrine* 1998; 7:267-79.
183. Cohick WS, Clemmons DR. The insulin-like growth factors. *Ann Rev Physiol* 1993; 55:131-53.
184. Hill PA, Reynolds JJ, Meikle MC. Osteoblasts mediate insulin-like growth factor-I and -II stimulation of osteoclasts formation and function. *Endocrinology* 1995; 136:124-31.
185. Mohan S, Baylink DJ. Bone growth factors. *Clin Orthop* 1991; 263:30-48.
186. Young MF. Bone matrix proteins: more than markers. *Calcif Tissue Int* 2003; 72:2-4.
187. Schonau E, Rauch F. Markers of bone and collagen metabolism. Problems and perspectives in Pediatrics. *Horm Res* 1997; 48:50-9.
188. Marcadores Bioquímicos de Remodelamiento Óseo. REIA Análisis Especiales. S. A.
189. Kado DM, Browner WS, Blackwell T, Gore R, Cummings SR. Rate of bone loss is associated with mortality in older women: a prospective study. *J Bone Miner Res.* 2000; 15:1974-80.
190. Van Der Klift M, Pols HA, Geleijnse JM, Van Der Kuip DA, Hofman A, De Laet CE. Bone mineral density and mortality in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone.* 2002; 30: 643—8.
191. Trivedi DP, Khaw KT. Bone mineral density at the hip predicts mortality in elderly men. *Osteoporos Int.* 2001; 12:259—65.
192. Ensrud KE, Thompson DE, Cauley JA, Nevitt MC, Kado DM, Hochberg MC, et al. Prevalent vertebral deformities predict mortality and hospitalization in older women with low bone mass. Fracture Intervention Trial Research Group. *J Am Geriatr Soc.* 2000; 48:241-9.
193. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study. *Calcif Tissue Int.* 2001; 68:271-6.
194. Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, et al. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study. *Am J Epidemiol.* 2009; 169:186-94.
195. Bagger YZ, Tankó LB, Alexandersen P, Qin G, Christiansen C, Prospective Epidemiological Risk Factors Study Group. Radiographic measure of aorta

- calcification is a site-specific predictor of bone loss and fracture risk at the hip. *J Intern Med.* 2006; 259:598-605.
196. Frost ML, Grella R, Millasseau SC, Jiang BY, Hampson G, Fogelman I, et al. Relationship of calcification of atherosclerotic plaque and arterial stiffness to bone mineral density and osteoprotegerin in postmenopausal women referred for osteoporosis screening. *Calcif Tissue Int.* 2008; 83:112-20.
197. Jørgensen L, Jacobsen BK. Functional status of the paretic arm affects the loss of bone mineral in the proximal humerus after stroke: a 1-year prospective study. *Calcif Tissue Int.* 2001; 68:11-5.
198. Rebeca Reyes-García<sup>a</sup>, Pedro Rozas-Moreno<sup>a</sup>, by Manuel Muñoz-Torresa. *Enfermedad cardiovascular y metabolismo óseo.* Publicado por Elsevier España, S.L. 2011.
199. Poser JW, Esch FS, Ling NC, Price PA. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone: undercarboxylation of the first glutamic acid residue. *U Biol Chem* 1980; 255: 8685-8691.
200. Cairns Jr, Price Pa. Direct demonstration that the vitamin K dependent Bone Lila Protein is incompletely  $\gamma$ -carboxylated in humans. *3 Bone Miner Res* 1994; 9: 1989-1997.
201. Kay MI, Young RA, Posner AS. Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature Lond* 1964; 204: 1050.
202. Eresford IN, Gallagher JA, Poser JW, Russel RGG. Production of osteocalcin by human bone cells in vitro. *Metab Bone Dis Report Res* 1984; 5: 229-234.
203. Johansen JS, Williamson MK, Rice JS, Price PA. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 501-512.
204. Butler WT, D'souza RN, Bronckers AL, Happonen RP, Somerman MJ. Recent investigations on dentin specific proteins. *Proc Finn Dent Soc* 1992; 88 (Suppl 1): 369-376.
205. Thiede MA, Smock SL, Peterson DN, Grasser WA, Thompson DD, Nishimoto SK. Presence of messenger ribonucleic acid encoding osteocalcin, a marker of bone turnover, in bone marrow megakaryocytes and peripheral blood platelets. *Endocrinology* 1994; 135: 929-937.
206. Fleet JC, Hock JM. Identification of osteocalcin mRNA in nonosteoid tissue of rats and humans by reverse transcription-polymerase chain reaction. *3 Bone Miner Res* 1994; 9: 1565-1573.
207. Levy RJ, Gundberg C, Scheinman R. The identification of the vitamin K dependent bone protein osteocalcin as one of the gamma carboxyglutamic acid containing proteins present in calcified atherosclerotic plaque and mineralized heart valves. *Atherosclerosis* 1983; 46: 49-56.
208. FURIE 8, FURIE BC. Molecular basis of vitamin K-dependent  $\gamma$ carboxylation. *Blood* 1990; 75: 1753-1762.

209. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW. Origin of the vitamin K dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. J Biol Chem 1981; 256: 12760-12766.
210. Eva María Díaz Diego. Tesis Doctoral Osteocalcina: Evaluacion de Diferentes Ensayos utilizados para su medida. Aplicacion al Estudio de las Formas Inmuno-reactivas presentes en el medio de cultivo de Osteoblastos humanos y Circulantes en Suero. 1996.
211. Balkau B, Vernay M, Mhamdi L, Novak M, et al. The incidence and persistence of the NCEP (National Cholesterol Education Program) metabolic syndrome. The French D.E.S.I.R. study. Diabetes Metab 2003; 29:526-32.
212. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence on the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA 2002; 281:356-9.
213. Sebastián Carranza Lira, Leonora Guerrero Mills, Angélica Castro. Frecuencia del síndrome metabólico en mujeres posmenopáusicas Mexicanas y su relación con la terapia hormonalGinecol Obstet Mex 2009; 77(8):367-71.
214. Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Gómez-Pérez FJ, Franco A, y col. El síndrome metabólico: concepto en evolución. Gac Med Mex 2004; 140:541-8.
215. Coca A, Aranda P, Bertomeu V, Bonet A, et al. Estrategias para un control eficaz de la hipertensión arterial en España. Documento de Consenso. Hipertensión 2006; 23(05):152-6.
216. Teede HJ, Lombard C, Deeks AA. Obesity, metabolic complications and the menopause: an opportunity for prevention.Climacteric. 2010; 13(3):203-9. Review.
217. Tremblay AJ, Després JP, Piché ME, Nadeau A, Bergeron J, Alméras N, Tremblay A, Lemieux S. Associations between the fatty acid content of triglyceride, visceral adipose tissue accumulation, and components of the insulin resistance syndrome.Metabolism. 2004 53(3):310-7.
218. Kawai M, Devlin MJ, Rosen CJ.Fat targets for skeletal health.Nat Rev Rheumatol. 2009; 5(7):365-72
219. Lansbury AJ, Grant PJ, Catto AJ. [Atherothrombotic risk factors in subjects with a family history of stroke](#).Cerebrovasc Dis. 2002;14(3-4):153-60
220. [Palomo I](#), [Alarcón M](#), [Moore-Carrasco R](#), [Argilés JM](#)Hemostasis alterations in metabolic syndrome (review).[Int J Mol Med](#). 2006; 18(5):969-74.
221. Alessi MC, Juhan-Vague I. Contribution of PAI-1 in cardiovascular pathology. [Arch Mal Coeur Vaiss](#).2004 97(6):673-8.
222. Owensby DA, Morton PA, Wun TC, Schwartz AL. Binding of plasminogen activator type-1 to extracellular matrix of Hep G2 cells: evidence that the binding protein is vitronectin. J Biol Chem 1991; 266:4334-40.
223. [Loskutoff DJ](#), [Sawdey M](#), [Mimuro J](#): Type 1 plasminogen activator inhibitor. Prog Hemost Thromb, 1989; 9:87-115
224. Schneiderman J, Sawdey MS, Keeton MR, Bordin GM, Bernstein EF, Dilley RB & Loskutoff DJ Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in

- atherosclerotic human arteries. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1992. 89, 6998.7002.
- 225 Robbie LA, Booth NA, Brown PAJ & Bennett B (1996) Inhibitors of fibrinolysis are elevated in the atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 16, 539.545.
- 226 Smith EB. Fibrin deposition and fibrin degradation products in atherosclerotic plaques. *Thrombosis Research*(1994) 75, 329.335.
- 227 Juhan-Vague I, Thompson S, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1865-73.
- 228 Mutch NJ, Wilson HM, Booth NA Plasminogen activator inhibitor-1 and haemostasis in obesity. *Proc Nutr Soc.* 2001; 60(3):341-7. Review
- 229 Hitsumoto T, Takahashi M, Lizuka T, Shirai K. Relation between metabolic syndrome and early stage coronary atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2007; 14:294-302.
- 230 Mansfield MH, Stickland M, Grant P. PAI-1 concentrations in first-degree relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes: metabolic and genetic associations. *Thromb Haemost* 1997; 77:357-61.
- 231 Festa A, Williams K, Tracy RP, Wagenknecht LE, Haffner SM. Progression of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen levels in relation to incident type 2 diabetes. *Circulation.* 2006 11; 113(14):1753-9.
- 232 Sakkinen P, Wahl P, Cushman M, Lewis M, Tracy R. Clustering of procoagulation, inflammation, and fibrinolysis variables with metabolic factors in insulin resistance syndrome. *Am J Epidemiol* 2000; 152:897-907.
- 233 Juhan-vague I, Roul C, Alessi M, Ardisson JP, Heim M, Vague P. Increased plasminogen activator inhibitor activity in non insulin dependent diabetic patients-relationship with plasma insulin. *Thromb Haemost*1989;61:370-3
- 234 Landin K, Tengborn L, Smith U. J Elevated fibrinogen and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in hypertension are related to metabolic risk factors for cardiovascular disease. *J Intern Med* 1990; 227:273-78.
- 235 Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost* 2003; 1:1575-79.
- 236 Asplund-Carlson A, Hamsten A, Wiman B, Carlson LA. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels and insulin sensitivity: studies in randomly selected normo- and hypertriglyceridaemic men. *Diabetologia* 1993; 36:817-25.
- 237 Meigs J, Mittleman M, Nathan D. Hyperinsulinemia, hyperglycemia, and impaired hemostasis: the Framingham Offspring Study. *JAMA* 2002; 283:221-28.
- 238 Festa A, D Agostinno R, Mykkanen L. Low-density lipoprotein particle size is inversely related to plasminogen activator inhibitor-1 levels. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:562-68.

- 239 Festa A, D Agostino R, Tracy RP, Haffner SM. Insulin resistance Atherosclerosis Study. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type II diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002; 51:1131-37.
- 240 Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. [Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype.](#) *J Clin Endocrinol Metab.* 20; 94(3):827-32.
- 241 Ford ES, Will JC, Ford MAP, Mokdad AH. Health insurance status and cardiovascular disease risk factors among 50-64-year-old U.S. women: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Womens Health.* 1998; 7 (8): 997-1006.
- 242 Síndrome Metabólico y Menopausia: Estudio Transversal en Ambulatorio de Ginecología José Albuquerque de Figueiredo Neto, Eduardo Durans Figuerêdo, José Bonifácio Barbosa, Fabrício de Flores Barbosa, Geny Rose Cardoso Costa, Vinícius José da Silva Nina, Rachel Vilela de Abreu Haickel Nina *Arq Bras Cardiol* 2010; 95(3): 339-345
- 243 Bilgili S, Celebiler AC, Dogan A, Karaca B. Inverse relationship between adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 in metabolic syndrome patients. *Endocr Regul* 2008; 42:63-68.
- 244 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(6):1595-9.
- 245 Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 ;89(2):447-52
- 246 Fortuño A, Rodríguez A, Gómez-Ambrosi J, Frühbeck G, Díez. [Adipose tissue as an endocrine organ: role of leptin and adiponectin in the pathogenesis of cardiovascular diseases.](#) *J Physiol Biochem.* 2003; 59(1):51-60. Review.

ANEXO 1

---

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México, D. F. a \_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20\_\_.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado **"DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE PAI-1 Y OSTEOCALCINA, COMO MARCADORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS CON SÍNDROME METABÓLICO."** El objetivo de este estudio es determinar las concentraciones séricas de PAI-1 (un marcador de riesgo cardiovascular) y la extracción de DNA para extraer polimorfismos (estudio de los genes) en sangre venosa en pacientes asintomático sexo femenino.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en extraerme 10 mL de sangre venosa en 1 sola ocasión, además del USG carotídeo y una valoración médica.

Declaro que se me ha informado ampliamente que como posible molestia de mi participación puede ser malestar ligero en el sitio de punción venosa y ocasionalmente una zona de equimosis (moretón).

El investigador principal Dra. Nydia Córdova Pérez junto con la alumna de la carrera de Q.F.B. Alma Grisel Díaz Martínez se ha comprometido a darme información de los hallazgos, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

**Beneficios.** Se le realizará determinaciones de colesterol, glucosa, triglicéridos, PAI-1 y el USG carotídeo con el cual se realizará una valoración para determinar el riesgo cardiovascular. Obteniendo de esta manera la posibilidad de modificar factores de riesgo que presente el paciente para evitar posibles eventos vasculares (Infartos, trombosis, embolias). Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

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

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre, matrícula y firma del investigador principal



## ANEXO 2

---

### HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

#### PROTOCOLO: "DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE PAI-1 Y OSTEOCALCINA, COMO MARCADORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS CON SÍNDROME METABÓLICO."

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Estado civil \_\_\_\_\_ Ocupación \_\_\_\_\_ No. Afiliación: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ Circunf. De Cintura: \_\_\_\_\_ Circunf.

De cadera \_\_\_\_\_ Índice de Cintura-cadera Perímetro de cuello: \_\_\_\_\_

TA \_\_\_\_\_ Sedentarismo: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Ejercicio \_\_\_\_\_

Tabaquismo: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Alcoholismo: Si \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

Ocasional \_\_\_\_\_

AHF \_\_\_\_\_

APP \_\_\_\_\_

Medicamentos antihipertensivos: \_\_\_\_\_

Medicamentos hipoglucemiantes: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ Otro tipo de medicamentos: \_\_\_\_\_

Tiempo \_\_\_\_\_ de

Menopausia \_\_\_\_\_

Terapia de Reemplazo Hormonal: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Cuanto tiempo: \_\_\_\_\_

#### **Determinaciones séricas:**

Adiponectina: \_\_\_\_\_ Leptina \_\_\_\_\_ Resistencia a la insulina \_\_\_\_\_

Glucosa: \_\_\_\_\_ Colesterol: \_\_\_\_\_ HDL: \_\_\_\_\_ LDL: \_\_\_\_\_

Triglicéridos: \_\_\_\_\_ HbGlicada: \_\_\_\_\_ NOx: \_\_\_\_\_

PAI-1: \_\_\_\_\_ FVW: \_\_\_\_\_

#### **Datos de USG**

Grosor carotídeo

Intima \_\_\_\_\_ Media \_\_\_\_\_

### ANEXO 3

#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE PAI-1

El Buffer debe estar a temperatura ambiente y debe ser diluido antes de iniciar el procedimiento de ensayo.

##### Buffer de lavado

- ✓ Si se han formado cristales en la solución de lavado, caliente suavemente hasta su completa disolución.
- ✓ Vierta todo el contenido (50 mL) del concentrado de buffer de lavado en un recipiente limpio aforado a 1000mL. Llevar a volumen final de 1000mL con agua desionizada o destilada. Mezclar con cuidado para evitar la formación de espuma. El pH de la solución final debe ajustarse a 7.4.
- ✓ Pasar a un frasco de lavado limpio y almacenar entre 2 ° y 25 ° C. Tenga en cuenta que el Buffer de lavado es estable durante 30 días.
- ✓ Buffer de lavado también se pueden preparar según sea necesario de acuerdo con la tabla siguiente:

Number of Strips	Wash Buffer Concentrate (ml)	Distilled Water (ml)
1 - 6	25	475
1 - 12	50	950

##### Buffer de ensayo (1x)

- ✓ Verter todo el contenido (5mL) del concentrado de buffer de ensayo (20x) en un recipiente limpio de 100 mL.
- ✓ Llevar a volumen final de 100mL con agua destilada.
- ✓ Mezclar con cuidado para evitar la formación de espuma.
- ✓ Conservar entre 2° y 8° C. Tener en cuenta que el buffer de ensayo (1x) es estable por 30 días.

El Buffer de ensayo (1x) también se puede preparar según sea necesario de acuerdo con la siguiente tabla:

Number of Strips	Assay Buffer Concentrate (ml)	Distilled Water (ml)
1 - 6	2.5	47.5
1 - 12	5.0	95.0

##### Conjugado de Biotina

*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

Tome en cuenta que el conjugado de Biotina debe ser utilizado dentro de los 30 minutos posteriores a la dilución.

Hacer una dilución 1:100 del conjugado de Biotina con solución de Buffer de ensayo (1x) en un tubo de plástico limpio como sea necesario de acuerdo con la tabla siguiente:

Number of Strips	Biotin-Conjugate (ml)	Assay Buffer (1x) (ml)
1 - 6	0.03	2.97
1 - 12	0.06	5.94

### **Estreptavidina-HRP**

Tomar en cuenta que el concentrado de Estreptavidina-HRP debe ser utilizado dentro de 30 minutos después de su dilución.

Hacer una dilución 1:200 de Estreptavidina-HRP con solución de Buffer de ensayo (1x) en un tubo de plástico limpio como sea necesario de acuerdo con la tabla siguiente:

Number of Strips	Biotin-Conjugate (ml)	Assay Buffer (1x) (ml)
1 - 6	0.03	2.97
1 - 12	0.06	5.94

### **Estándar humano de PAI-1**

Reconstituir el estándar de PAI-1 humano mediante la adición de agua destilada. El volumen de reconstitución se indica en la etiqueta del frasco estándar. Girar o mezclar cuidadosamente para garantizar una completa y homogénea solubilización (concentración del estándar reconstituido = 10000 pg/mL). Tiene que ser utilizado inmediatamente después de la reconstitución y no se puede almacenar.

Las diluciones estándar se pueden preparar directamente en la microplaca o alternativamente en tubos.

### ***Dilución estándar externo***

Etiqueta 7 tubos, uno para cada punto estándar.

S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, preparar diluciones seriadas 1:2 para la curva estándar como sigue:

Pipetear 225 µL de tampón de ensayo (1x) en cada tubo. Pipetear 225 µL de estándar reconstituido (concentración = 10000 pg / mL) en el primer tubo, etiquetado como S1, y

*"Determinación de las concentraciones séricas del Inhibidor del Activador de Plasminógeno 1 (PAI-1) y Osteocalcina, como marcadores de Riesgo Cardiovascular, en mujeres posmenopáusicas con Síndrome Metabólico."*

mezclar (concentración del estándar 1 = 5000 pg / mL). Pipetear 225  $\mu$ L de esta dilución en el segundo tubo, etiquetado como S2, y mezclarlo antes de la siguiente transferencia. Repetir diluciones seriadas 5 veces más, formando de esta manera los puntos de la curva estándar. El buffer de ensayo (1x) sirve como blanco.

Transfer 225  $\mu$ L

