



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRÁN

**IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES METABÓLICAS ASOCIADAS CON LA
CONCENTRACIÓN EN SUERO DE ÁCIDOS BILIARES TOTALES EN ADULTOS MEXICANOS**

**TESIS DE POSGRADO QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE SUBESPECIALISTA EN
ENDOCRINOLOGÍA GENERAL PRESENTA:**

DRA. CRISTINA MARTÍNEZ BERDEJA

ASESOR DE TESIS: DRA. IVETTE CRUZ BAUTISTA

MÉXICO D.F., AGOSTO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dra. Ivette Cruz Bautista

Asesor de tesis

Dr. Francisco Javier Gómez Pérez

Jefe del Departamento y del curso de Endocrinología

Dr. Sergio Ponce de León Rosales

Jefe de Enseñanza

Agradecimientos

A mis padres, Cristina y Raúl por su apoyo en todo lo que hago.

A mi hermana, Alejandra por confiar en mí y ser mi gran asesora.

A mi abuela Elena, quien siempre estuvo ahí y siempre confió en mí.

A mis compañeros y amigos endocrinólogos, Nicole, Marco, Toño y Paolo, quienes son un gran apoyo.

A mis amigas y amigos Aura, Ada, Jorge, Marcela, Daniela Y., Lucy, Gaby, Silvia, Ilce y Genny, quienes siempre me apoyan, entienden y quieren.

Al Dr. Aguilar, quien es un gran asesor académico y un gran apoyo en mi formación profesional.

A mis profesores Dr. Bernardo Pérez, Dr. Alfredo Reza, Dra. Ivette Cruz, Dr. Sergio Hernández y Dr. Zentella por su enseñanza endocrinológica y motivación continua en este campo de estudio.

Índice

	Página
Resumen	5
Introducción	5
Antecedentes	6
Pregunta de investigación	7
Justificación	7
Objetivo primario	8
Objetivos secundarios	8
Hipótesis	8
Pacientes y métodos	8
Análisis estadístico	13
Resultados	13
Discusión	22
Conclusiones	23
Limitaciones y fortalezas	23
Bibliografía	23

Identificación de variables metabólicas asociadas con la concentración en suero de ácidos biliares totales en adultos mexicanos

Resumen

Objetivo. Conocer la asociación entre ácidos biliares totales (ABT) y parámetros metabólicos y clínicos en adultos mexicanos. **Métodos.** Estudio clínico prospectivo, no experimental, de correlación y transversal. Se incluyeron 407 pacientes adultos en el análisis. Se aplicó un cuestionario para obtener información sobre edad, género, antecedentes familiares, personales y medicamentos actuales. Se obtuvieron los datos antropométricos de peso, talla, IMC, presión arterial, cintura y cadera, bajo protocolos de medición estandarizados. Se obtuvo una muestra de sangre en ayuno para obtener la medición de glucosa, insulina basal, perfil de lípidos y ABT en suero. **Resultados.** Las mujeres con obesidad central tuvieron un incremento significativo en los ácidos biliares totales. Se encontró que a mayor IMC, mayor concentración de ABT (NS). Los grupos de diabéticos y síndrome metabólico fueron los que tuvieron la mayor concentración de ABT en suero ($p < 0.001$). El grupo de hipoalfalipoproteinemia fue el que tuvo el mayor nivel de ABT ($10.3 \mu\text{mol/l}$). Se encontró una correlación positiva entre la concentración de ABT en suero y el HOMA ($r=0.274$, $p < 0.001$), la glucosa ($r=0.197$, $p < 0.001$) y la insulina ($r=0.195$, $p < 0.001$) y una correlación negativa con el HDL-C ($r=-0.106$, $p=0.033$). Los determinantes principales de la concentración de ABT en adultos son el HOMA (B/ES 0.230, $p=0.0001$), la edad (B/ES 0.127, $p=0.011$) y la apoproteína B (-0.109 , $p=0.028$). **Conclusión.** Los niveles de ABT están significativamente incrementados en el síndrome metabólico y la diabetes mellitus. Los principales determinantes de la concentración de ABT fueron la resistencia a la insulina, la edad y el nivel de apoproteína B.

Introducción

La síntesis de ácidos biliares constituye la vía catabólica principal del colesterol en humanos. Los ácidos biliares son detergentes fisiológicos potentes para absorber y transportar nutrientes, grasas y vitaminas liposolubles. Por otro lado, participan en la regulación del metabolismo hepático de lípidos y glucosa, a través de la activación de receptores nucleares específicos y vías de señalización celular (1,2).

Los ácidos biliares son capaces de alterar el metabolismo de glucosa en los hepatocitos por dos mecanismos. Primero, los ácidos biliares conjugados activan la vía de señalización de la insulina a través de receptores acoplados a proteína G alfa i o a iones superóxido y funcionan como insulina, para activar a la sintasa de glucógeno y reprimir los genes de gluconeogénesis. Segundo, los ácidos biliares tardan horas en activar genes que codifican para SHP (short heterodimer partner) al actuar sobre el promotor del sitio funcional del receptor nuclear farnesoide (FXR). SHP puede unir a FOXO1, C/EBP alfa y HNF 4 alfa, que son factores de transcripción conocidos en activar genes de gluconeogénesis (1).

Los ácidos biliares regulan las tasas de síntesis de ácidos grasos, triglicéridos y VLDL a través de FXR, SHP, LXR y SREBP-1c. SHP regula a la baja el gen que codifica SREBP 1c al interactuar con LXR. LXR alfa potencia la actividad transcripcional del gen que codifica SREBP 1c. Los agonistas de LXR alfa elevan los niveles de triglicéridos. Los ácidos biliares pueden disminuir los niveles de triglicéridos al potenciar la depuración y el recambio de las VLDL. Los ácidos biliares inducen

al gen que codifica apolipoproteína C-II, que es el coactivador de lipoproteín lipasa, involucrado en metabolismo de VLDL. Por último, los ácidos biliares inducen otros genes que codifican enzimas y proteínas involucradas en la recaptura y metabolismo de las VLDL (1).

El FXR juega un papel central en la regulación de la síntesis, excreción y transporte de los ácidos biliares. El FXR regula la gluconeogénesis, la síntesis de glucógeno y la sensibilidad a la insulina. Los niveles de glucógeno hepático se encontraron incrementados en ratones diabéticos después de la activación de FXR y reducidos en ratones doble deleción homocigota para FXR. La activación o sobreexpresión de FXR mejora la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina en ratones diabéticos. Los ratones con deleción homocigota de FXR muestran resistencia periférica a la insulina e intolerancia a la glucosa comparado con los ratones silvestres. Estos efectos euglucémicos en la activación de FXR, se piensa que se dan por la represión de los genes gluconeogénicos hepáticos (fosfoenol piruvato carboxinasa (PEPCK) y glucosa 6 fosfatasa (G6Pase)). Sin embargo, en estudios de ratones diabéticos, el tratamiento del ratón silvestre con agonistas de FXR ha mostrado resultados inconsistentes sobre la actividad de PEPCK y los niveles de glucosa. Varios estudios han mostrado un cambio en el patrón de ácidos biliares en ratas experimentales con diabetes, en donde el pool de ácido cólico está incrementado y el pool de ácido quenodesoxicólico está disminuido (4).

Antecedentes

En un estudio longitudinal y de casos y controles (Steiner et al.), se investigó la variación diurna de la concentraciones en suero de los 15 principales ácidos biliares así como del precursor biosintético 7 alfa hidroxilado 4 colestano 3 uno (C4) y su asociación, respectivamente con enfermedad arterial coronaria, diabetes mellitus tipo 2 y síndrome metabólico.

Se estudió en cuatro probandos sanos, la variación intraindividual de C4, ácidos biliares conjugados y no conjugados, en veinticuatro horas, tomando muestras de sangre cada hora. Los resultados de la variación intraindividual fue de 42 a 72% para C4, 23 a 91% para ácidos biliares conjugados y 49 a 90% para los ácidos biliares no conjugados. Las concentraciones de ácidos biliares conjugados incrementan principalmente, posterior a las comidas. Los niveles séricos de C4 y ácidos biliares no conjugados cambian a lo largo del día, con variación interindividual máxima entre 20 y 1 hr y entre 3 y 8 hr, respectivamente.

Se realizó una comparación de la información de 75 pacientes con enfermedad arterial coronaria (CAD) y 75 pacientes sin CAD (controles). No se encontró asociación entre niveles de C4 y ácidos biliares con enfermedad arterial coronaria. Se comparó a 50 controles (sin síndrome metabólico y sin diabetes), 50 pacientes con síndrome metabólico y 50 pacientes con diabetes mellitus tipo 2, se encontró un incremento significativo en los niveles de C4 medidos en ayuno en pacientes con síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2. En el análisis de regresión múltiple, se encontró al IMC y nivel de triglicéridos, como determinantes independientes de los niveles de C4. En el análisis multivariado y en el análisis de componentes principales, la asociación de C4 con diabetes mellitus tipo 2 y/o síndrome metabólico, no fue independiente ni superior a los componentes del síndrome metabólico. En conclusión, a pesar de amplias variaciones intra e interindividuales, los niveles de C4, están significativamente incrementados en los pacientes con síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2, aunque se confunden con los parámetros de índice de masa corporal y triglicéridos (9).

Se investigó la relación entre ácidos biliares en ayuno y parámetros metabólicos en humanos (Cariou et al). Se incluyeron 14 sujetos sanos, 20 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y 22 pacientes con obesidad central sin diabetes. Se realizó medición de glucosa de ayuno, insulina y perfil de lípidos a todos los pacientes; además se evaluó la sensibilidad de insulina con pinza hiperinsulinémica-euglucémica en un subgrupo de pacientes (9 sanos y 16 con diabetes mellitus tipo 2). Se midió gasto energético a través de calorimetría indirecta. Se determinaron las concentraciones de ácidos biliares: cólico, quenodesoxicólico y desoxicólico. En el análisis univariable, se encontró una asociación positiva entre el índice de HOMA y el ácido quenodesoxicólico ($\beta=0.09$, $p=0.001$), ácido cólico ($\beta=0.03$, $p=0.09$) y ácido desoxicólico ($\beta=0.07$, $p<0.0001$). Mediante análisis de Spearman se encontró una relación inversa entre el ácido quenodesoxicólico ($r=-0.44$, $p=0.03$), ácido cólico ($r=-0.65$, $p=0.001$) y la tasa de infusión de glucosa. El índice de HOMA permaneció positivamente asociado con ácido quenodesoxicólico ($\beta=0.11$, $p=0.01$), ácido cólico ($\beta=0.04$, $p=0.01$) y ácido desoxicólico ($\beta=0.06$, $p=0.007$) en el análisis multivariable, después del ajuste para edad, género, índice de masa corporal, hemoglobina glucosilada y parámetros de lípidos en plasma. Por otro lado, la hemoglobina glucosilada, gasto energético y concentración de lípidos en plasma no correlacionó con el nivel de ácidos biliares plasmáticos en análisis multivariable. En conclusión las concentraciones de ácidos biliares se asociaron negativamente con la sensibilidad a la insulina en un rango amplio de sujetos (12).

En un estudio de 10 hombres sanos, se les colocó una sonda intrayeyunal y se les infundió ácido taurocólico disuelto en solución salina (2 gr) durante 30 minutos y después se les infundió ácido taurocólico (2 gr) y solución glucosada al 25% durante 120 minutos. Se midió en sangre glucosa, GLP-1 total, insulina, péptido C y glucagón. Se encontró que al infundir ácido taurocólico sin glucosa, no produjo cambios en los parámetros medidos en sangre. Por otro lado, al infundir glucosa enteral junto con el ácido taurocólico, se observó una disminución de la concentración de glucosa en sangre ($p < 0.001$) y un incremento en GLP-1 en plasma ($p < 0.001$) y en la relación péptido-C/glucosa ($p = 0.008$). Los valores de insulina en plasma, péptido-C y glucagón no fueron diferentes respecto a los controles. Se concluyó que la infusión de ácido taurocólico al intestino delgado, potencialmente reduce la respuesta glucémica en intestino delgado, y esto parece estar relacionado a un incremento en GLP-1 y en la relación péptido-C/glucosa. Refuerza el potencial que tienen los ácidos biliares como parte del tratamiento en diabetes mellitus tipo 2 (13).

Pregunta de investigación

¿Existe una correlación positiva o negativa estadística significativa (>0.30) entre la concentración de ácidos biliares totales en suero con parámetros clínicos y bioquímicos en sujetos adultos?

Justificación

Existen pocos estudios que caracterizan el perfil de ácidos biliares en pacientes mexicanos. No se conoce el papel de los ácidos biliares, en los subgrupos de pacientes con diabetes mellitus, síndrome metabólico y dislipidemias. Existe suficiente evidencia que las alteraciones en la producción de ácidos biliares y eliminación de colesterol están involucrados en la patogénesis

de diversas entidades clínicas tales como las dislipidemias, la aterosclerosis, la malabsorción y la litiasis biliar.

El conocimiento del metabolismo de los ácidos biliares, complementará el diagnóstico clínico y contribuirá al tratamiento de enfermedades metabólicas y hepáticas. Los ácidos biliares y los receptores activados por ácidos biliares (FXR, PXR, CAR, VDR) son blanco terapéutico para el desarrollo de fármacos en el tratamiento de litiasis biliar, hígado graso, enfermedad colestásica hepática, obesidad, diabetes y síndrome metabólico.

Es deseable conocer el impacto clínico de los ácidos biliares en la homeostasis metabólica en humanos.

Objetivo principal

Investigar la asociación que existe entre la concentración en suero de ácidos biliares totales en ayuno y los parámetros metabólicos clínicos (edad, género, IMC, perímetro de cintura, presión arterial) y bioquímicos (CT, TG, HDL-C, LDL-C, no HDL-C, insulina, glucosa, HOMA IR, apoproteína B) en sujetos adultos.

Objetivos secundarios

Comparar la concentración de ácidos biliares totales en suero en subgrupos de pacientes diabéticos y no diabéticos, con y sin síndrome metabólico, con y sin obesidad, con y sin dislipidemia.

Conocer si existen diferencias en la concentración de ácidos biliares en suero de acuerdo a la edad y al género.

Hipótesis

HA: Existirá una correlación positiva entre la concentración en suero de ácidos biliares con parámetros clínicos (edad, IMC, cintura) y parámetros bioquímicos: glucosa, insulina, triglicéridos y correlación negativa con HDL-C, LDL-C y no HDL-C.

Pacientes y métodos

a)Diseño metodológico del estudio

Se trata de un estudio clínico no experimental con un alcance descriptivo-correlacional, de análisis observacional y de recolección transversal.

b) Tamaño de la muestra

El tamaño de muestra permite realizar una correlación lineal del 30% con una precisión del 80% asumiendo un error alfa de 0.05 y un error B de 0.20 para una distribución de dos colas.

Se utilizó la siguiente fórmula: $n = \left(\frac{Z_{\alpha} - Z_{1-\beta}}{Z_{\rho}} \right)^2 + 3$ Donde se define Z_{ρ} como:

$$Z_{\rho} = \frac{1}{2} \text{Ln} \left(\frac{1+\rho}{1-\rho} \right) \quad \rho = \text{coeficiente de correlación propuesto de } 0.3$$

$$Z_{\rho} = \frac{1}{2} \text{Ln} \left(\frac{1+0.3}{1-0.3} \right) = 0.3095 - n = \left(\frac{1.96 - (-0.84)}{0.3095} \right)^2 + 3 = 85 \text{ pacientes}$$

c) Procedimientos

Se capturaron a individuos adultos provenientes de la consulta externa de las Clínicas de Diabetes y Dislipidemias, que ya habían participado previamente en otros protocolos del Departamento de Endocrinología y Metabolismo del INCMNSZ, que cumplieran con los criterios de selección y sujetos voluntarios que se conocían sanos provenientes de fuentes externas. En todos los casos se revisó y se confirmó en el expediente clínico, que tuvieran parámetros clínicos y bioquímicos completos, así como consentimiento informado.

Se aplicó un cuestionario estandarizado el cual se encuentra conformado de la siguiente forma:

1. Información General

Nombre, edad, sexo, teléfono, dirección, fecha de nacimiento, ocupación, correo electrónico

2. Historia Clínica

2.1 Antecedentes familiares y personales de diabetes, hipertensión, dislipidemia, pancreatitis, obesidad, enfermedades cardiovasculares y enfermedad tiroidea

2.2 Antecedentes personales no patológicos sobre consumo de alcohol, tabaquismo, actividad física y dieta

2.3 Medicamentos actuales para diabetes, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, dislipidemia, obesidad, tiroides y otros

Para la obtención de las variables antropométricas se siguió el siguiente protocolo de medición:

1. Toma de la presión arterial sistólica y diastólica con esfigmomanómetro de mercurio; los sujetos permanecieron sentados y en reposo por cinco minutos antes de la medición
2. Para la medición del peso y la talla, los pacientes se retiraron los zapatos y suéteres. El peso fue medido en una báscula, regularmente calibrada. El índice de masa corporal (IMC) fue calculado dividiendo el peso (Kg) entre la talla (expresada en metros al cuadrado)
3. Se registró la circunferencia de la cintura. Se colocó al sujeto en posición de firmes, con la cinta en un plano paralelo al horizontal y sin ropa a nivel del sitio de medición. La cinta se colocó en el nivel más estrecho de la cintura. En personas muy obesas no existe cintura, por lo que la cinta debe medir la circunferencia mínima del abdomen en la zona media entre el borde costal y las crestas iliacas al final de una espiración normal

La obtención de las variables bioquímicas se realizó de la siguiente manera:

Se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL-C), colesterol LDL (LDL-C), triglicéridos (TG), colesterol no HDL (no HDL-C), glucosa, insulina y apolipoproteína B. Se les solicitó acudir a la toma de muestra de sangre, previo ayuno de 9-12 horas. Todas las mediciones de laboratorio fueron realizadas en el laboratorio del Departamento de Endocrinología y Metabolismo de este Instituto.

Los lípidos plasmáticos y la glucosa fueron determinados por ensayo enzimático con reactivos comercialmente disponibles de la casa (Beckman Coulter). La concentración de insulina se midió por microparticles enzyme-linked immunoassay (MEIA). Niveles de apolipoproteína B fueron medidos utilizando nefelometría cuántica. The homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA IR) fue calculado utilizando insulina plasmática de ayuno y glucosa plasmática de ayuno: $\text{insulina (uU/ml)} \times \text{glucosa (mg/dl)} / 405$. La medición en suero de ácidos biliares totales se realizó mediante un ensayo enzimático colorimétrico. Dichas determinaciones se realizaron en el laboratorio del Departamento de Endocrinología del INCMNSZ.

No se tomaron muestras sanguíneas si cualquiera de los participantes había cursado con algún evento agudo cualquiera, dentro de los 30 días previos a la toma de muestra.

d) Criterios de selección

Criterios de Inclusión:

Adultos mujeres y hombres de 18 a 80 años de edad que hayan participado en protocolos de investigación del departamento

Criterios de exclusión:

Existencia de patologías que modifiquen la concentración de los lípidos sanguíneos como:

- Hipotiroidismo no tratado
- Enfermedad renal crónica severa
- Enfermedad hepática severa
- Embarazo
- Ingesta de medicamentos que alteren el perfil lipídico
- Antecedente de colecistectomía
- Antecedente conocido de malabsorción
- Neoplasias

Criterios de eliminación:

Pacientes con expediente o resultados de laboratorio incompletos

e) Variables estudiadas

DEPENDIENTE: Concentración en suero de ácidos biliares totales

INDEPENDIENTES:

1. Edad
2. Género
3. Índice de sensibilidad a insulina (HOMA) determinado por la siguiente ecuación:
$$\text{glucosa (mg/dl)} \times \text{insulina (mU/L)} / 405$$
4. Insulina basal UI/L
5. Perímetro de cintura (cm)
6. IMC (kg/m^2)
7. Glucosa (mg/dl)
8. Apoproteína B (mg/dl)
9. CT (mg/dl)

10. TG (mg/dl)
11. HDL-C (mg/dl)
12. LDL-C (mg/dl)
13. No HDL-C (mg/dl)

f) Definiciones operacionales

IMC: Índice de Masa Corporal (IMC) de Quetelet se obtiene con la división del peso en kilogramos dividido entre la talla en metros elevada al cuadrado

Obesidad: es definida como un IMC ≥ 30 kg/m²

Sobrepeso: es definido como un IMC de 25 a 29.9 Kg/m²

Hipertrigliceridemia aislada: nivel de triglicéridos ≥ 150 mg/dL

Hipercolesterolemia aislada: nivel de colesterol ≥ 200 mg/dL

Dislipidemia Mixta: nivel de triglicéridos ≥ 150 mg/dL y nivel de colesterol total ≥ 200 mg/dL

Diabetes Mellitus tipo 2: definida de acuerdo a los siguientes criterios diagnósticos:

1. Glucosa de ayuno en ≥ 126 mg/dl
2. CTOG con valor a las 2 horas de ≥ 200 mg/dl
3. Glucosa en cualquier momento del día ≥ 200 mg/dl con la presencia de síntomas clásicos de diabetes: pérdida de peso involuntario, poliuria, polidipsia, polifagia

Intolerancia a la glucosa: valor en CTGO a las 2hrs entre ≥ 140 a < 200 mg/dl

Glucosa anormal de ayuno: valores de glucosa plasmática en ayunas ≥ 100 mg/dl

Resistencia a la insulina: HOMA (homeostasis model assessment) (insulina en ayuno (μ U/mL) x glucosa en ayuno (mg/dL) / 405) ≥ 2.5

Síndrome metabólico de acuerdo a los criterios del ATP-III (Adult Treatment Panel III) como tres o más de las siguientes alteraciones:

Circunferencia de cintura ≥ 88 cm en mujeres ó ≥ 102 cm en hombres** ≥ 90 cm en hombres y ≥ 80 cm en mujeres

Nivel de triglicéridos ≥ 150 mg/dL

Nivel de HDL < 40 mg/dL en hombres o < 50 mg/dL en mujeres

Glucosa en ayuno ≥ 100 mg/dL

Presión arterial $\geq 130/85$ mmHg

** Nivel de perímetro de cintura (cm) propuesto para población hispana por la IDF (Federación Internacional de Diabetes)

Tabaquismo: consumo de al menos 1 cigarrillo un mes previo

Alcoholismo: consumo de al menos 10 raciones/semana los 2 meses previos al estudio. Ración de vino: 150 ml, ración de bebidas destiladas: 30 ml, ración de cerveza: 150 ml

Apo B: su determinación en plasma habla del total de partículas aterogénicas que posee un individuo. Se ha tomado como punto de corte para criterio diagnóstico en pacientes con HLC de 120mg/dl en pacientes caucásicos. En población mexicana el punto de corte es de 99 mg/dl en mujeres y 108 mg/dl en hombres.

Glucosa: se consideran valores normales entre 70-99mg/dl

Análisis estadístico

Para la descripción de las variables se utilizó promedio y desviación estándar (distribución normal) o mediana e intervalo intercuartilar (IIC) (distribución no normal) según fuera apropiado. Se realizó la transformación logarítmica de las variables con distribución no normal, y se calcularon coeficientes de correlación de Pearson entre la variable dependiente (ácidos biliares totales) y las variables independientes. Se realizó análisis de regresión lineal múltiple. Para realizar el análisis estadístico en los subgrupos (DM vs no DM, SM vs no SM), se realizó comparación de promedios con estadística paramétrica (t de student) o estadística no-paramétrica (U-Mann Whitney) de acuerdo a la distribución de las variables. Las variables categóricas se analizaron por medio de la prueba de Mantel-Haenszel (escalamiento ordinal) o Chi cuadrada (escalamiento dicotómico). Se utilizó prueba de ANOVA para comparar la media cuando se tratara de más de dos subgrupos. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. El análisis se llevó a cabo con el programa estadístico SPSS versión 19.

Resultados

Características de la población

Se describió a la población de adultos estudiada en tres grupos para su descripción. Se incluyeron 407 pacientes en el análisis, de los cuales 54 pacientes fueron controles, 48 pacientes con obesidad sin diabetes y 305 pacientes con diabetes. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para IMC, insulina, HOMA, HDL, presión arterial y cintura. Al

realizar una comparación del grupo control con el grupo de diabéticos, se encontraron diferencias significativas en todas las variables bioquímicas y antropométricas, excepto para colesterol total, colesterol no HDL y apoproteína B. Se observó que el grupo con mayor concentración de ácidos biliares totales en suero fue el grupo de los pacientes diabéticos (Tabla 1).

Tabla 1 Características de la población

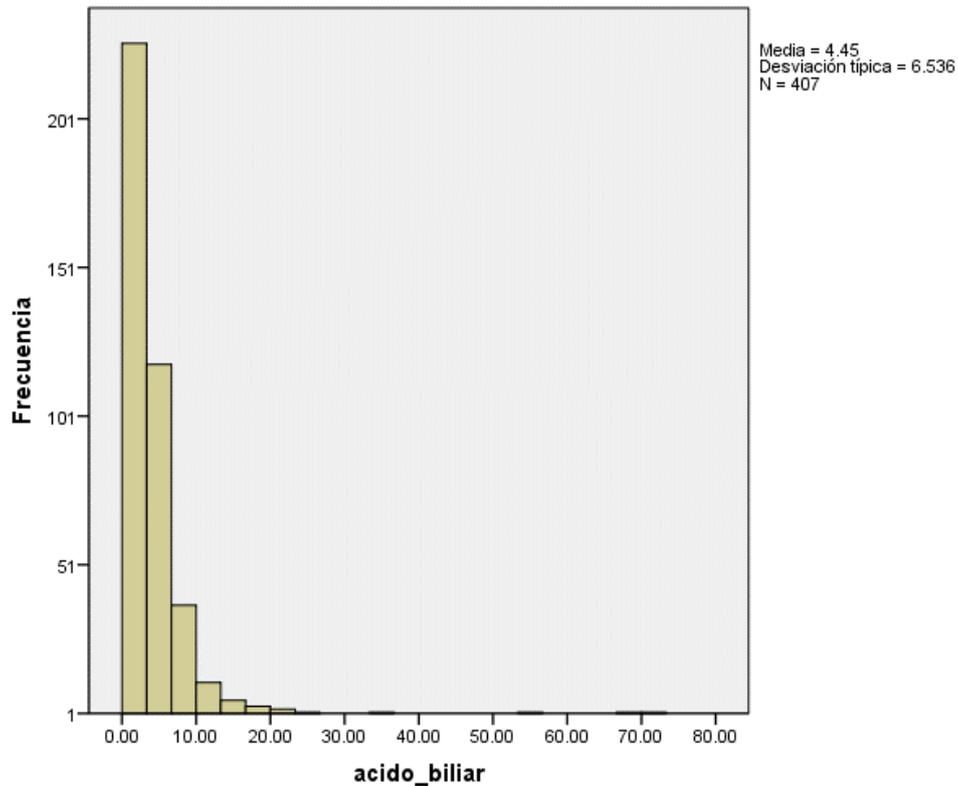
	Controles	Obesidad	DM2	p	p
n	54	48	305		
Edad (años)	39±14	43±15	55±11	0.224	0.000*
Género (H/M)	12/42	17/31	102/203		
IMC (kg/m ²)	23±2.5	32±3.4	30±7.0	0.000	0.000*
Glucosa (mg/dl)	85±6	87±7	156±74	0.356	0.000*
Insulina (μU/l)	11±17	15±11	16±18	0.001	0.005*
HOMA	2.3±3.2	3.1±2.5	6.0±10.0	0.001	0.000*
CT (mg/dl)	206±45	192±53	201±49	0.108	0.348*
Tg (mg/dl)	148±101	182±107	222±204	0.032	0.000*
LDL (mg/dl)	126±37	117±44	114±39	0.137	0.030*
HDL (mg/dl)	52±13	52±10	45±11	0.000	0.000*
noHDL (mg/dl)	154±43	150±51	155±45	0.342	0.990*
TBA (μmol/l)	2.3±1.9	3.6±5.4	4.9±7.1	0.114	0.000*
ApoB (mg/dl)	102±35	101±32	100±30	0.945	0.680*
TAS (mmHg)	111±23	120±17	128±20	0.011	0.000*
TAD (mmHg)	73±11	80±8	82±11	0.000	0.000*
Cintura (cm)	78±8.3	79±10	78±13	0.000	0.000*

* Comparación de controles con DM2

Distribución de los ácidos biliares totales en suero en la población de estudio

Se observó una distribución no normal de la variable dependiente del estudio, en donde la mayor parte de los pacientes tienen niveles bajos de ácidos biliares totales y menos pacientes muestran cifras altas de ABT mayores a 10 μmol/l. La media de la concentración de ABT fue de 4.45 μmol/l (Gráfico 1).

Gráfico 1 Distribución de ABT en la población de estudio



Concentración de ácidos biliares totales en suero acorde a obesidad abdominal e índice de masa corporal.

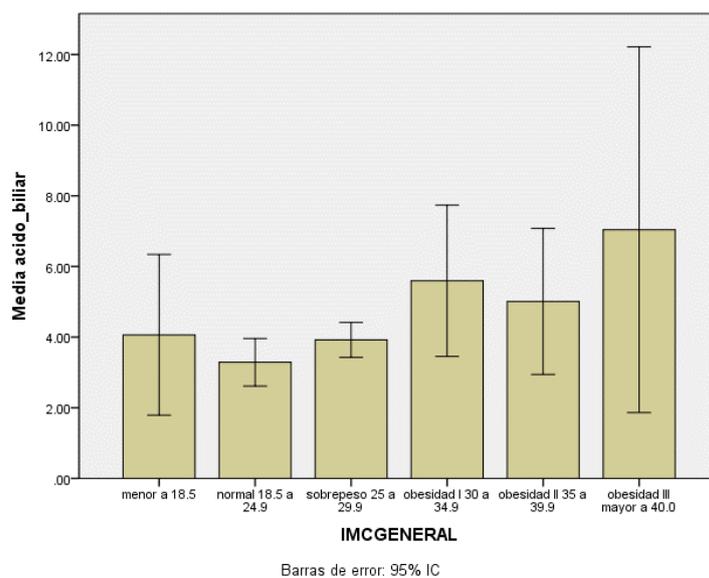
Se encontró que en el grupo de mujeres (n = 240) con obesidad central (cintura ≥ 80 cm) la concentración de ABT en suero fue significativamente mayor al compararla con el grupo de mujeres sin obesidad central (5.0 ± 8.0 vs 2.8 ± 2.1 , $p = 0.019$) (Tabla 2).

Se encontró una relación directa positiva entre la concentración de ABT y el IMC, en donde a mayor IMC, mayor concentración de ABT en suero. Siendo el grupo con $IMC > 40$ kg/m^2 con la concentración más alta de ABT. No alcanzó significancia estadística (Tabla 2).

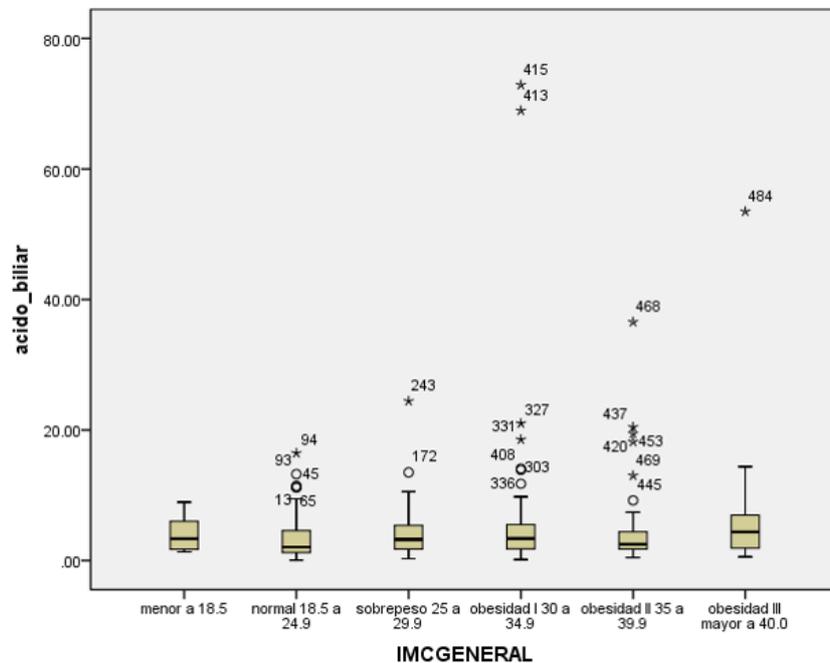
Tabla 2 Concentración de ABT acorde a obesidad central e IMC

Característica	Ácidos biliares totales (TBA) $\mu\text{mol/l}$	p
Cintura Hombres $\geq 90\text{cm}$,n=90 $< 90\text{cm}$,n=40	3.6 \pm 3.2 4.1 \pm 3.9	0.749
Cintura Mujeres $\geq 80\text{cm}$,n=240 $< 80\text{cm}$,n=37	5.0\pm8.0 2.8 \pm 2.1	0.019
IMC kg/m^2 (OMS) < 18.5 ,n=8 18.5-24.9,n=88 25-29.9,n=153 30-34.9,n=93 35-39.9,n=44 > 40 ,n=21	4.0\pm2.7 3.2 \pm 3.1 3.9 \pm 3.0 5.5 \pm 10.3 5.0 \pm 6.8 7.0\pm11.3	0.067
IMC kg/m^2 (NOM) 25-26.9,n=61 > 27 ,n=250	3.4 \pm 2.6 5.1\pm7.9	0.078

Gráfica 2 Distribución de ABT acorde a estratos de IMC



Gráfica 3 Distribución de ABT acorde a estratos de IMC



Concentración de ABT acorde al género, estatus de diabetes y síndrome metabólico.

No se encontraron diferencias en las concentraciones de ácidos biliares totales en cuanto al género.

Se realizó una subdivisión de los pacientes de acuerdo a estatus de diabetes en diabéticos (n=287), prediabéticos (n=18) y no diabéticos (n=102). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa al comparar la concentración de ABT entre los subgrupos ($p < 0.001$). Se realizó una segunda comparación de la concentración de ABT entre el grupo sin diabetes con la suma de los grupos de prediabéticos y diabéticos, encontrando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$) (Tabla 3).

Se clasificaron a los pacientes de acuerdo al estatus de síndrome metabólico definido de acuerdo a la ATP-III e IDF. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar la concentración de ABT entre los pacientes con y sin síndrome metabólico (4.9 ± 7.22 vs 2.9 ± 2.7 , $p < 0.001$) (Tabla 3).

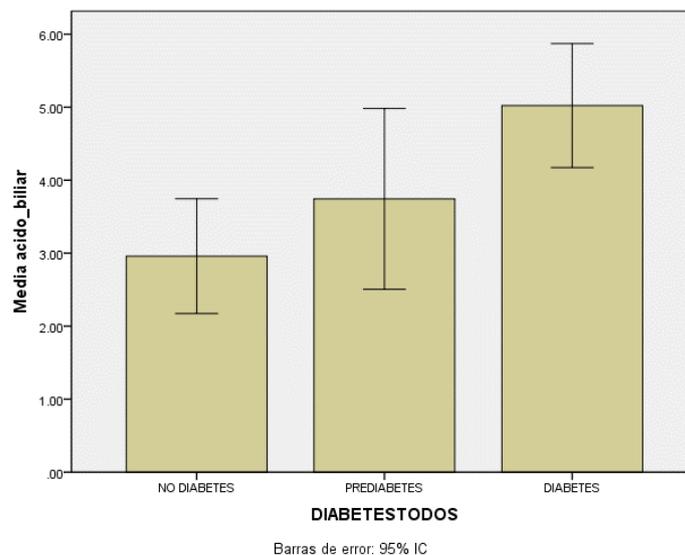
Tabla 3 Concentración de ABT acorde al género, estatus de diabetes y síndrome metabólico

Característica	Ácidos biliares totales (TBA) $\mu\text{mol/l}$	p	p
Género Hombres, n=131 Mujeres, n=276	3.7 \pm 3.4 4.7 \pm 7.5	0.362	
Diabetes, n= 287 Pre diabetes, n=18 No diabetes, n= 102	5.0 \pm 7.3 3.7 \pm 2.4 2.9 \pm 4.0	<0.001	<0.001**
SM ATP III Si, n= 308 No, n= 99	4.9 \pm 7.22.9 2.9 \pm 2.7	<0.001	
SM IDF Si, n= 285 No, n= 122	4.9 \pm 7.5 3.2 \pm 3.0	0.002	
Control, n=47 Obeso, n=19 SM ATP III, n=37 DM, n= 304	2.1 \pm 1.4 2.5 \pm 1.9 4.1 \pm 6.1 4.9 \pm 7.1	<0.001	0.213 + <0.001 *** 0.120 ‡

** No diabéticos vs sujetos con DM y Prediabetes, + Controles y Sujetos con SM ATP III, *** Controles vs DM

‡ SM ATP III vs DM

Gráfica 4 Distribución de ABT acorde a estratos de tolerancia a la glucosa



Se subdividió a los pacientes de acuerdo a grupo de dislipidemia: normolipidémicos (n=82), hipercolesterolemia (n=65), hipertrigliceridemia (n=96), dislipidemia mixta (n=132), hipoalfalipoproteinemia (n=32). Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los 5 subgrupos en cuanto a concentración total de ácidos biliares totales (p=0.005), perímetro de cintura (p=0.001), nivel de insulina (p=0.041), glucosa (p=0.001), edad (p=0.037) y apoproteína B (p=0.0001). El grupo de hipoalfalipoproteinemia (HDL-C <40 mg/dl) fue el que tuvo la mayor concentración de ABT en suero (10.3 ±17.2 μmol/l). El grupo de dislipidemia mixta presentó los niveles más altos de insulina, glucosa y apoproteína B (Tabla 4).

Tabla 4 Características metabólicas de acuerdo a fenotipos lipídicos

Característica	Normo lipídicos n= 82	HCT n= 65	HTG n= 96	DISLIPIDEMIA MIXTA n= 132	HIPOALFA n= 32	p
Ácidos Biliares (μmol/l)	3.2±3.1	3.3±2.4	4.7±6.6	4.0±3.3	10.3±17.2	0.005
Cintura (cm)	92.6±15.5	91.4±15.2	97.2±10.7	97.3±12.6	98.7±13.3	0.001
Insulina (μU/l)	13.1±11.1	12.7±16.9	14.4±11.2	17.1±23.3	15.2±10.0	0.041
Glucosa (mg/dl)	113.2±47.8	138.3±72.3	140.0±59.1	155.3±85.5	133.6±73.3	0.001
Edad (años)	48.1±15.0	52.9±11.8	53.7±13.9	51.8±12.0	48.4±14.6	0.037
Apo B (mg/dl)	78.2±14.3	112.6±24.3	88.4±16.9	124.1±33.4	72.1±18.4	0.000

*p=0.226 Normolipidémicos vs HTG

**p= 0.881 HTG vs Dislipidemia Mixta

+p=0.117 Normolipidémicos vs Dislipidemia Mixta

Correlación bivariada de variables antropométricas y bioquímicas con la concentración de ácidos biliares totales.

Las variables que tuvieron una mejor correlación lineal positiva con significancia estadística fueron glucosa (r=0.197, p <0.001), insulina (r=0.195, p <0.001) y HOMA (r=0.274, p <0.001) (Tabla 5).

Tabla 5 Correlación bivariada de variables antropométricas y bioquímicas con la concentración de ABT

Variable	r	p	p*
Edad	0.120	0.016	
IMC	0.098	0.048	
Cintura	0.113	0.022	
Glucosa	0.197	<0.001	0.045
Insulina	0.195	<0.001	0.002
HDL	-0.106	0.033	
Apo B	-0.098	0.050	
HOMA	0.274	<0.001	<0.001
TG	0.058	0.241 (NS)	
NO HDL-C	-0.033	0.510 (NS)	
LDL-C	-0.103	0.050 (NS)	

* p = solo para el grupo de Diabéticos

Determinantes de la concentración de ABT

Se realizaron dos modelos para establecer cuáles eran las variables independientes principales en determinar la concentración de ácidos biliares totales en suero de adultos. El primer modelo mostró que los determinantes principales de la concentración de ABT son el HOMA (B/ES 0.230±0.075, p=0.0001), la edad (B/ES 0.127±0.004, p=0.011) y la apoproteína B (B/ES -0.109 ±0.141, p=0.028). El segundo modelo, estableció como determinantes importantes a la glucosa (B/ES 0.215±0.110, p 0.009), a la insulina (B/ES 0.204±0.75, p=0.0001), a la edad (B/ES 0.131±0.004, p=0.0001) y a la apoproteína B (B/ES -0.110±0.140, p=0.023) (Tabla 6).

Tabla 6 Determinantes de la concentración de ABT

	DETERMINANTE	B/ES	IC95%	p	r	r ²	p* modelo
ABT	HOMA	0.230±0.075	(0.127-0.423)	0.000	0.349	0.122	0.000
	EDAD	0.127±0.004	(0.002-0.016)	0.011			
	APOB	-0.109±0.141	(-0.585- -0.032)	0.028			
	HDL-C	-0.087±0.208	(-0.762- 0.057)	0.090			
	CINTURA	-0.007±0.615	(-1.25- 1.16)	0.902			
	GLUCOSA	0.090±0.132	(-0.058- 0.462)	0.125			
	GENERO	-0.082±0.106	(-0.376- 0.041)	0.116			
	IMC	0.000±0.422	(-0.832-0.829)	0.997			

Modelo 1

	DETERMINANTE	B/ES	IC95%	p	r	r ²	p* modelo
ABT	GLUCOSA	0.215±0.110	(0.263-0.297)	0.009	0.350	0.122	0.000
	INSULINA	0.204±0.75	(0.128-0.403)	0.000			
	EDAD	0.131±0.004	(.002- 0.016)	0.000			
	APOB	-0.110±0.140	(-0.589- -0.36)	0.023			
	HDL-C	-0.085±0.208	(-0.751-0.065)	0.094			
	CINTURA	-0.007±0.614	(-1.25- 1.16)	0.941			
	GENERO	-0.081±0.106	(-0.372- 0.044)	0.122			
	IMC	0.000±0.422	(-0.130- 0.829)	0.998			

Modelo 2

Comparación por terciles de TBA y parámetros metabólicos

Se establecieron 3 grupos de acuerdo a terciles de TBA: primer tercil (n=134), segundo tercil (n=135) y tercer tercil (n=138). Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la edad, perímetro de cintura, glucosa, insulina y HOMA. El tercer tercil fue el grupo que tuvo mayor nivel de glucosa, insulina y HOMA (Tabla 7).

Tabla 7 Comparación por terciles de TBA y parámetros metabólicos

Variable	Tercil 1 ABT n=134	Tercil 2 ABT n=135	Tercil 3 ABT n=138	p
Edad (años)	48.0±12.9	53.6±12.8	52.5±13.9	0.001
IMC (kg/m ²)	28.8±7.4	29.0±5.1	30.0±6.2	0.132
Cintura (cm)	93.3±15.1	96.1±12.1	97.1±13.0	0.027
TAS (mmHg)	121.8±20.7	126.8±22.6	126.0±20.1	0.097
TAD (mmHg)	78.6±10.7	81.8±12.0	80.5±11.0	0.073
Glucosa (mg/dl)‡	124±61.4	134.8±61.2	157.1±84.9	0.000
Insulina (mU/l)‡	12.7±12.9	14.1±11.1	17.5±23.4	0.015
HOMA‡	3.6±3.3	4.8±5.9	7.1±14.1	0.000
CT (mg/dl)	196.7±45.1	202.6±46.1	202.0±54.7	0.616
TG (mg/dl)‡	181.3±116.9	201.5±139.1	239.1±261.6	0.051
HDL-C (mg/dl)	46.3±10.6	46.5±11.7	44.5±11.0	0.194
No HDL-C (mg/dl)	150.3±41.9	156.0±44.5	157.4±51.1	0.570
Apo B (mg/dl)	100.8±32.3	101.4±29.0	99.4±33.1	0.650

‡ Ajustado por cintura, edad

Comparación de percentilas 10 y 90 de TBA y parámetros metabólicos

Se subdividió en dos subgrupos de acuerdo a las percentilas extremas: percentila 10 (n=45) y percentila 90 (n=44). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en glucosa, insulina, HOMA y apoproteína B (Tabla 8).

Tabla 8 Comparación de percentilas 10 y 90 de TBA y parámetros metabólicos

VARIABLE	P10 ABT n=45	P90 ABT n=44	p
Edad (años)	51.6±12.8	54.8±14.6	0.287
IMC (kg/m ²)	29.6±9.1	30.7±6.7	0.327
Cintura (cm)	94.4±16.4	98.7±13.7	0.139
TAS (mmHg)	127.8±20.9	127.8±16.6	0.897
TAD (mmHg)	79.6±10.5	82.5±11.9	0.255
Glucosa (mg/dl)‡	127.1±62.6	173.9±99.0	0.007
Insulina (mU/l)‡	10.8±7.5	19.8±33.4	0.005
HOMA‡	3.1±2.0	8.8±18.1	0.000
CT (mg/dl)	206.8±49.0	190.7±55.0	0.129
TG (mg/dl)	212.3±124.1	246.7±254.8	0.830
HDL-C (mg/dl)	47.3±11.7	43.8±11.6	0.129
no HDL-C (mg/dl)	159.5±44.4	146.9±48.0	0.187
Apo B (mg/dl) ‡	110.5±33.3	94.0±30.0	0.016

‡ Ajustado por cintura

Discusión

En nuestro estudio se encontró que los determinantes principales de la concentración en suero de ácidos biliares totales son la insulina, la glucosa y la edad. En el estudio de Steiner et al. se encontró como determinantes principales de C4, precursor biosintético de los ácidos biliares, el nivel de triglicéridos (B/ES 0.295) y el IMC (B/ES 0.223). Por otro lado, en este último estudio al establecer al IMC como variable dependiente, C4 resultó ser una variable determinante del índice de masa corporal (B/ES 0.160).

No se encontró que la edad ni el género modificaran las concentraciones de ácidos biliares o su precursor C4 en el estudio de Steiner et al., mientras que la edad en nuestro estudio, si parece ser un determinante importante de la concentración en suero de ácidos biliares totales.

Al igual que en nuestro estudio, en donde se encontró que tanto los pacientes con diabetes mellitus como en los pacientes con síndrome metabólico, tienen incrementados los niveles en suero de ácidos biliares totales, en el estudio de Steiner et al. se encontró que el precursor C4, también se encuentra elevado en el síndrome metabólico y en la diabetes mellitus tipo 2.

C4 mostró una correlación positiva con significancia estadística con el IMC, el nivel de triglicéridos, la glucosa, la HbA1 y el HOMA-IR (Steiner et al). En el estudio de Cariou et al. se encontró una asociación positiva entre HOMA-IR y la concentración de ácidos biliares, la cual persistió aún al ajustar para edad, género, IMC, HbA1c y lípidos. Las concentraciones de ácidos

biliares se asociaron negativamente con la sensibilidad a la insulina en un amplio rango de sujetos. No se encontró correlación entre ácidos biliares y HbA1c, gasto energético basal y niveles de lípidos (Cariou et al.).

En nuestro estudio, se encontró una correlación positiva entre los ácidos biliares totales en suero y el HOMA-IR ($r = 0.274$, $p < 0.001$), la glucosa ($r=0.197$, $p < 0.001$) y la insulina ($r=0.195$, $p < 0.001$). Se encontró también correlación positiva entre ácidos biliares totales en suero y la edad, el IMC y la cintura. Se observó una correlación negativa entre ácidos biliares totales en suero y el nivel de colesterol HDL y la apoproteína B (NS).

Conclusiones

Los niveles en suero de ácidos biliares totales están incrementados de manera significativa en los pacientes con síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2.

Los principales determinantes de la concentración de ácidos biliares totales en adultos fueron la resistencia a la insulina, la edad y la concentración de apoproteína B. Se observó que a mayor edad y resistencia a la insulina existe una mayor concentración de ácidos biliares totales en suero. Por otro lado, a menor nivel de apoproteína B existe mayor concentración de ácidos biliares totales en suero.

Limitaciones y fortalezas del estudio

Una de las limitaciones que tuvo el estudio fue no poder medir FGF 19 por su costo.

Debido a que existen amplias variaciones intra e interindividuales en los ácidos biliares en humanos (Steiner et al.), sería ideal haber realizado varias mediciones (mínimo dos) en ayuno en días alternos para tener un promedio de ABT de cada sujeto.

Bibliografía

- 1.Hylemon, et al. Thematic Review Series: Bile Acids. Bile acids as regulatory molecules. *Journal of Lipid Research*, 2009. 50: 1509-1520.
- 2.Chiang et al. Thematic Review Series: Bile Acids. Bile acids: regulation of synthesis. *Journal of Lipid Research*, 2009. 50: 1955-1966.
- 3.Kuipers et al. Bile acids, farnesoid X receptor, atherosclerosis and metabolic control. *Curr Opin Lipidol*, 2007. 18:289-297.
- 4.Watanabe et al Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP and SREBP 1c. *J Clin Invest*, 2004. 113:1408-1418.
- 5.Houten et al. New EMBO Member's Review. Endocrine functions of bile acids, 2006. 25:1419-1425.
- 6.Lefebvre et al. Role of Bile Acids and Bile Acid Receptors in Metabolic Regulation. *Physiol Rev*, 2009. 89:147-191.

- 7.Haeusler et al. Impaired Generation of 12-Hydroxylated Bile Acids Links Hepatic Insulin Signaling with Dyslipidemia. *Cell Metabolism*, 2012. 15: 65-74.
- 8.Thomas Q. de Aguiar Vallim et al. Pleiotropic Roles of Bile Acids in Metabolism. *Cell Metabolism*, 2013. 17: 657-669.
- 9.Steiner et al. Bile Acid Metabolites in Serum: Intraindividual Variation and Associations with Coronary Heart Disease, Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus. *PLoS one*, 2011. Vol.6 (11): 1-15.
- 10.Li, Chiang et al. Review article. Bile Acid Signaling in Liver Metabolism and Diseases. *Journal of Lipids*, 2012. 1-9.
- 11.Meissner et al. Bile Acid Sequestration Reduces Plasma Glucose Levels in db/db Mice by Increasing Its Metabolic Clearance Rate. *PLoS one*, 2011. Vol.6 (11): 1-8.
- 12.Cariou et al. Fasting plasma chenodeoxycholic acid and cholic acid concentrations are inversely correlated with insulin sensitivity in adults. *Nutrition and Metabolism*, 2011. 8: 48.
- 13.Togzhi Wu et al. Effects of Taurocholic Acid on Glycemic, Glucagon-like Peptide-1, and Insulin Responses to Small Intestinal Glucose Infusion in Healthy Humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013. 98: E718-E722.
- 14.Rohit Kohli et al. A Surgical Model in Male Obese Rats Uncovers Protective Effects of Bile Acids Post-Bariatric Surgery. *Endocrinology*, 2013. 154:2341-2351.
- 15.Glenn et al. A Role for Fibroblast Growth Factor 19 and Bile Acids in Diabetes Remission After Roux-en-Y Gastric Bypass. *Diabetes Care*, 2013. 36:1859-1864.
- 16.Jiménez et al. GLP-1 Action and Glucose Tolerance in Subjects With Remission of Type 2 Diabetes After Gastric Bypass Surgery. *Diabetes Care*, 2013. 36:2062-2069.