



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA

**"Asociación de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (Propéptido N y Telopéptido C) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1"**  
RESULTADOS PRELIMINARES

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO EN LA  
ESPECIALIDAD DE ENDOCRINOLOGIA  
PRESENTA:

**DRA. RUTH CARMINA CRUZ SOTO**

Tutores: DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA  
DR. MARIO MOLINA AYALA  
DRA. GUADALUPE VARGAS ORTEGA  
DR. BALDOMERO GONZALEZ VIRLA



MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**DRA. DIANA G. MENEZ DIAZ**  
Jefe de la División de Educación en Salud  
Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI



**DR. MOISES MERCADO ATRI**  
Profesor titular del curso de Especialización en Endocrinología  
Especialista en Medicina Interna y Endocrinología  
Maestro y Doctor en Ciencias Médicas, UNAM  
Jefe de la Unidad de Endocrinología Experimental, Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



**DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA**  
Especialista en Medicina Interna y Endocrinología  
Maestra en Ciencias Médicas, UNAM  
Jefe del Servicio de Endocrinología, Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



"2013, Año de la Lealtad Institucional y Centenario del Ejército Mexicano"

**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI,  
D.F. SUR

FECHA 05/07/2013

**MTRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA**

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**"Asociación de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (Propéptido N y Telopéptido C) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1"**

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2013-3601-152

ATENTAMENTE

**DR. CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi familia, tutores y amigos es especial a Dra. Victoria Mendoza Zubieta por su esfuerzo y dedicación en el desarrollo de esta tesis, Analleli Manguilar León y Aldo Ferreira Hermosillo por su apoyo incondicional.

## **DEDICATORIA**

A mi prometido Juan Guillermo Rodríguez Ayala por ser parte importante en mi vida y apoyarme en mi formación profesional.

## ÍNDICE

TEMA		PÁGINA
1	Resumen	7
2	Hoja de datos	8
3	Marco teórico	9
4	Planteamiento del problema	15
5	Justificación	15
6	Pregunta de investigación	15
7	Hipótesis	16
8	Objetivos	16
9	Pacientes y métodos	16
10	Diseño del estudio	17
11	Criterios de selección	18
12	Análisis estadístico	19
13	Consideraciones éticas	20
15	Análisis de los resultados	21
16	Discusión	22
17	Conclusiones	24
18	Bibliografía	25
19	Anexos	27

## **Asociación de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (Propéptido N y Telopéptido C) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1**

### **RESUMEN**

**Introducción:** La asociación entre la diabetes y la enfermedad ósea continúa siendo controvertida. La Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune en la cual las células  $\beta$  del páncreas son destruidas.

El proceso de remodelación ósea está regulado por factores sistémicos (hormonales) y factores locales (autocrinos y paracrinos). Dentro de los primeros, se encuentran las hormonas calciotrópicas: paratohormona (PTH), calcitriol 1,25(OH) $_2$ D3 y calcitonina, así como otras hormonas no relacionadas con el metabolismo mineral como las hormonas gonadales (estrógenos y andrógenos), hormona de crecimiento y su efector el factor de crecimiento insulinoide tipo 1, (GH/IGF-1), hormonas tiroideas y glucocorticoides. Dentro de los factores locales se encuentran principalmente los factores pro-inflamatorios IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 y la disminución de los anti-inflamatorios (IL-10). La IOF (International Osteoporosis Foundation) y la IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) recomiendan como marcador de formación la determinación sérica del propéptido N de la procólágena tipo I (s-PINP) y como marcador de resorción la determinación sérica del telopéptido C-terminal de la colágena tipo I (s-CTX).

Los pacientes con DM1 presentan una menor DMO (Densidad Mineral Ósea) y mayor riesgo de fractura. No hay estudios que analicen la asociación de las citocinas inflamatorias con cambios en el recambio óseo en pacientes con DM1.

**Objetivo:** Identificar el tipo y concentración de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$ ) en pacientes con DM1 y analizar su asociación con los marcadores de recambio óseo (s-CTX y s-PINP).

**Pacientes y métodos:** Se estudiaron pacientes con DM1 de ambos sexos, mayores de 16 años con seguimiento en el servicio de Endocrinología del Hospital de Especialidades CMN SXXI. Se determinaron las concentraciones séricas de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ ) y marcadores de resorción y formación ósea (s-CTX y s-PINP) y se determinó la asociación entre ambas.

**Análisis estadístico:** Se describen las variables de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de los datos. Para establecer normalidad en la distribución de las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Shapiro Wilks. Para las asociaciones entre las variables se utilizó la prueba de ji cuadrada y para las variables cuantitativas, U de Man Whitney o prueba t. Para establecer correlaciones entre variables cuantitativas la prueba de Pearson o Spearman. Una  $p < 0.05$  se consideró con significancia estadística.

**Discusión:** La osteoporosis tradicionalmente se ha relacionado con hombres y mujeres de edad avanzada así como con la deficiencia de estrógenos y el uso crónico de esteroides; sin embargo existen condiciones como la diabetes mellitus tipo 1 en la que los factores de regulación y crecimiento óseo se encuentran bajos, lo que predispone a aparición más temprana de la osteoporosis.

**Conclusiones:** Los pacientes con DM1 tienen alteraciones en el metabolismo óseo y hasta 10 veces más riesgo de fractura en relación a la población general. La fisiopatología parece ser multifactorial, es probable que intervengan el hipoinsulismo, las concentraciones bajas de IGF-1 y el incremento de los factores proinflamatorios que acompañan a la DM1.

**Palabras Clave:** Propéptido N, telopéptido C, IL-1, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  y diabetes mellitus tipo 1.

# HOJA DE DATOS

## 1. DATOS DEL ALUMNO

Cruz  
Soto  
Ruth Carmina  
55 22 48 71 44  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Medicina  
Especialista en Endocrinología  
510220590

## 2. DATOS DE LOS ASESORES

Mendoza  
Zubieta  
Victoria

Molina  
Ayala  
Mario Antonio

Vargas  
Ortega  
Guadalupe

González  
Virla  
Baldomero

## 3. DATOS DE LA TESIS

Asociación de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (Propéptido N y Telopéptido C) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1.

25 p.  
2014

## 4. PALABRAS CLAVE

Propéptido N, telopéptido C, IL-1, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  y diabetes mellitus tipo 1.

## MARCO TEÓRICO

La pérdida de masa ósea constituye un importante problema de salud, tanto por su elevada asociación con el riesgo de fractura como por su repercusión socioeconómica. La fractura osteoporótica provoca dolor, limitación funcional, disminución de la calidad de vida, con un gran incremento en los costos de la atención sanitaria (1).

La DMO o cantidad de hueso por unidad de volumen, aumenta progresivamente durante el crecimiento y desarrollo hasta alcanzar un pico de masa ósea máxima aproximadamente a los 30 años. (2) El remodelado óseo (resorción y formación) es el mecanismo por el cual el hueso viejo se renueva reparando las microlesiones. Se calcula que la tasa anual normal de recambio óseo es del 4% en el hueso cortical y del 11% en el trabecular. El proceso de remodelamiento está regulado por un complejo sistema de señales endocrinas y paracrinas, donde intervienen factores genéticos, biomecánicos (actividad física y gravedad), factores locales (Interleucina 6 [IL-6], factor de necrosis tumoral alfa [TNF- $\alpha$ ] y factores de crecimiento), sistema endocrino (fundamentalmente el eje de vitamina D y paratohormona [PTH]) y otros factores metabólicos, neurológicos y vasculares (3).

En forma normal los estrógenos inhiben la secreción de los factores TNF- $\alpha$ , IL-1 (interleucina 1), IL-6, y el RANKL (Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta), incrementan la secreción de osteoprotegerina y como efecto final inhiben la osteoclastogénesis y la resorción ósea. Este efecto protector se pierde con la menopausia, debido a la elevación de los factores proinflamatorios TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 lo cual funciona como un factor etiopatogénico importante en la pérdida de masa ósea en la mujer postmenopáusica (4-6).

La asociación entre la diabetes y la enfermedad ósea continúa siendo controvertida (1). La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune en la cual las células  $\beta$

del páncreas son destruidas ocasionando una incapacidad para mantener las concentraciones adecuadas de insulina en respuesta a los nutrientes.

En los pacientes con DM1 se ha observado la participación del estado inflamatorio en el desarrollo de complicaciones crónicas. Schram *et al.* determinaron las concentraciones de PCR (proteína C reactiva), IL-6 y TNF- $\alpha$  en 543 pacientes con DM1 seguidos por el EURODIAB Prospective Complications Study (seguimiento del estudio EURODIAB IDDM [Insulin-Dependent Diabetes Mellitus] Complications Study que se llevó a cabo de 1988 a 1991 en 3250 pacientes con DM1 captados de 31 centros de atención europeos). En este estudio, encontraron diferencias significativas en cuanto a la presencia de hipertensión arterial sistémica [HAS] (57% vs 13%,  $p < 0.001$ ), cifras de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad [c-HDL] ( $1.60 \pm 0.43$  vs  $1.69 \pm 0.45$  mmol/L,  $p = 0.02$ ), cifras de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad [c-LDL] ( $3.28 \pm 1.10$  vs  $2.86 \pm 0.93$  mmol/L,  $p < 0.001$ ), cifras de triacilgliceroles [TAG] (1.14 vs 0.84 mmol/L,  $p < 0.001$ ), concentraciones de PCR (1.32 vs 0.69 mg/L), IL-6 (2.14 vs 1.55 pg/mL) y TNF- $\alpha$  (3.17 vs 2.23 pg/mL) entre los pacientes con y sin complicaciones vasculares (definidas como historia de infarto del miocardio, angina, colocación de bypass coronario, eventos cerebrovasculares y/o cambios electrocardiográficos). Además, encontraron que las cifras de estos marcadores inflamatorios (en especial las cifras de TNF- $\alpha$ ) estaban directamente asociadas con albuminuria, retinopatía y enfermedad cardiovascular e inversamente relacionadas con la tasa de filtración glomerular. En este estudio encontraron las citocinas inflamatorias IL-6 y TNF- $\alpha$  más elevadas en los DM1 asociado a sus complicaciones crónicas, pero no se evaluó el efecto en el recambio óseo (7).

Estudios de histomorfometría ósea en pacientes con DM1 han demostrado que presentan un bajo recambio, con reducción de la formación y en menor grado un incremento en la resorción ósea (8). La disminución de la formación ósea se manifestó por la disminución

sérica de los marcadores de la actividad osteoblástica. Mientras que los marcadores de resorción ósea estuvieron incrementados en estos pacientes (9).

El mecanismo de la reducción del recambio óseo en la DM1 no está bien establecido. En un estudio en ratas urémicas se ha sugerido que la falta de insulina puede disminuir el recambio óseo (10). Los efectos anabólicos de la insulina pueden estar mediados por la vía del factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF-1) y debido a que en la DM1 hay bajas concentraciones de insulina, e IGF1, la función de los osteoblastos pudiese estar alterada (11).

En contraste en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la obesidad y la resistencia a la insulina producen concentraciones mayores de insulina e IGF-1, con un posible efecto anabólico sobre el hueso. Así, la mayoría de los estudios en DM2 han demostrado que los parámetros de la densitometría ósea se encuentran normales o aumentados tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, la incidencia de fractura está incrementada en la DM2 y se le ha asociado a la glucosilación proteica y a la macroangiopatía (12,13).

En una revisión sistemática y en un meta-análisis de diabetes y fractura, se demostró un incremento similar del riesgo de fractura de cadera en DM1 (RR de 6.3 y 6.9) y DM2 (RR de 1.7 y 1.4), respectivamente (14). Los resultados de este meta-análisis también mostraron que en los pacientes con DM2, los parámetros de la DMO en la columna vertebral y cadera están aumentados, y en los pacientes con DM1, se encuentran disminuidos en ambos sitios (15). Además, se demostró que en los pacientes con complicaciones crónicas de la diabetes, los parámetros de la DMO fueron menores con un aumento en el riesgo de fractura.

En otros estudios poblacionales, se ha encontrado una asociación entre el riesgo de fractura (húmero proximal, vertebral y cadera) y una mayor duración de la diabetes,

retinopatía diabética, catarata cortical avanzada y neuropatía (16). La asociación entre la retinopatía y el riesgo de fractura se mantuvo en forma significativa después de ajustar con la agudeza visual, (para evitar el riesgo de caídas) lo que sugiere que la retinopatía puede ser un reflejo de la enfermedad microvascular en la DM1 de largo tiempo de evolución.

Las citocinas son secretadas por células estromales del hueso, células del sistema inmune, del sistema hematopoyético y las células adiposas. Estas citocinas, ejercen un efecto importante en la regulación del metabolismo óseo, ya que estimulan principalmente la resorción ósea. (17) La IL-1 (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) es producida por los macrófagos. Estas citocinas tienen una función activadora de los osteoclastos con gran efecto resortivo y pueden inhibir la síntesis de colágena por el osteoblasto. La IL-1 estimula también la secreción de la IL-6 por las células estromales, la cual estimula la resorción ósea, por incremento del reclutamiento de osteoclastos. La IL-1 y la IL-6 son disminuidas por efecto del estrógeno e intervienen en el incremento de la resorción ósea en la menopausia. El factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) o caqueccina es otra citocina producida por los macrófagos activados, juega un papel importante en los eventos asociados con la respuesta inmune, estimula la resorción ósea e inhibe la formación ósea *in vitro*; asimismo estimula la secreción de IL-1(17).

### **Remodelación ósea**

El remodelado óseo es el mecanismo por el cual el hueso adulto se renueva constantemente a partir de la activación de las unidades básicas multinucleares (UBMs), con el fin de reparar las microfisuras causadas por la fatiga y mantener intacta su estructura y funcionalidad. El hueso se encuentra en un continuo proceso de resorción y formación, como consecuencia del remodelado óseo se liberan diversos marcadores

bioquímicos, que nos indican de forma indirecta en qué situación está el proceso de formación/resorción. Un aumento de los productos de resorción indicará un recambio óseo acelerado manifestado por un balance negativo en el remodelado con un incremento de la pérdida ósea. La remodelación ósea puede ser valorada mediante la medición de los marcadores bioquímicos de resorción y formación que pueden ser determinados en la orina o en la sangre. La mayoría de los marcadores son el resultado de la destrucción o síntesis de la colágena tipo 1, que es uno de los componentes principales (90% del contenido orgánico) de la matriz ósea (18).

La IOF (International Osteoporosis Foundation) y la IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) recomiendan como marcador de formación la determinación sérica del propéptido N de la procolágena tipo I (s-PINP) y como marcador de resorción a la determinación sérica del telopéptido C-terminal de la colágena tipo I (s-CTX) (19).

El proceso de remodelación ósea está regulado por factores sistémicos (hormonales) y factores locales (autocrinos y paracrinos). Dentro de los primeros, se encuentran las hormonas calciotrópicas: paratohormona (PTH), calcitriol  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  y calcitonina, así como otras hormonas no relacionadas con el metabolismo mineral como las hormonas gonadales (estrógenos y andrógenos), hormona de crecimiento (GH) y su efector el IGF-1, hormonas tiroideas y glucocorticoides. Dentro de los factores locales se encuentran principalmente los factores pro-inflamatorios: IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-6 (17). La remodelación ósea está a cargo de la acción combinada de los osteoclastos y los osteoblastos en forma secuencial y antagónica pero independiente, bajo el estímulo y modulación por los factores antes mencionados. Estos factores, se regulan mediante el sistema RANK/RANKL/OPG (RANK [receptor activador del factor nuclear kappa beta] RANKL, OPG [Osteoprotgerina]). Las proteínas RANKL y OPG son producidas por los

osteoblastos y normalmente se encuentran en equilibrio funcional. Los osteoclastos se derivan de precursores mononucleares por estímulo del factor estimulante de colonias de macrófagos (CSF-M), el RANKL, la OPG y el RANK que está expresado en las células precursoras de los osteoclastos (18).

Los pacientes con DM1 presentan menor DMO y mayor riesgo de fractura. No hay estudios que asocien las citocinas inflamatorias con los cambios en el recambio óseo en pacientes con DM1.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

En el servicio de Endocrinología del Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI, contamos con una población de pacientes con DM1 que reciben una atención integral: endocrinológica, nutricional y oftalmológica. Esto permite alcanzar metas adecuadas en los ámbitos del control metabólico, cardiovascular y osteomuscular.

La pérdida de masa ósea constituye un importante problema de salud, tanto por su elevada asociación con el riesgo de fractura como por su repercusión socioeconómica. Se sabe por estudios previos que los pacientes con DM1 tienen menor densidad mineral ósea y mayor riesgo de fractura; sin embargo no hay estudios que analicen la asociación de citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$ ) con el recambio óseo valorado por la medición de marcadores de resorción (s-CTX) y formación (s-PINP).

El conocimiento de los diferentes patrones de citocinas existentes ayudaría a comprender los factores que se asocian con alteraciones en el recambio óseo en pacientes con DM1.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la asociación entre las concentraciones de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (s-PINP y s-CTX) en los pacientes con DM1?

## **HIPÓTESIS**

El incremento en las concentraciones de las citocinas inflamatorias IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  y la disminución en la concentración de IL-10 se asocian al incremento en las concentraciones de s-CTX y disminución de las concentraciones de s-PINP, en pacientes con DM1.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Identificar el tipo y concentración de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$ ) así como su asociación con los marcadores de recambio óseo (s-PINP y s-CTX) en los pacientes con DM1.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**

- Tipo de estudio: transversal, analítico.
- Población de estudio:
  - Universo de estudio: pacientes pertenecientes a la clínica de DM1 del Hospital de Especialidades CMN SXXI "Dr. Bernardo Sepúlveda).
  - Periodo de estudio: de Junio de 2012 a Diciembre de 2013.
- Lugar de estudio:
  - Servicio de Endocrinología del Hospital de Especialidades, CMN SXXI.

## DISEÑO DEL ESTUDIO

- 1) Se obtuvieron los datos clínicos y bioquímicos de los pacientes con DM1, en la hoja de registro durante la consulta de la Clínica de DM1. **(Anexo 1)**
- 2) Se tomó sangre total de los pacientes con un ayuno de 12 h (7 mL) y se determinaron las concentraciones séricas de IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-10 mediante técnica de citometría de flujo utilizando el HU Inflammation CBA kit. Así mismo se determinaron los marcadores de formación (propéptido N de la procolágena tipo I) ósea utilizando técnica de inmunoquimioluminiscencia mediante kit IDS-iSYS Intact PINP (IDS, EUA) y de resorción (telopéptido C-terminal de la colágena tipo I) mediante Human C-telopeptide of type I collagen, ICTP ELISA Kit (MyBiosource, EUA).
- 3) Se evaluó la asociación de la concentración de estas citocinas con la concentración de los marcadores de recambio óseo.
- 4) Solo participarán los pacientes que otorguen su consentimiento informado por escrito. **(Anexo 2)**

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Edad mayor de 16 años.
- Pacientes de ambos sexos.
- Con seguimiento regular en la consulta externa (asistencia a sus tres últimas citas en el último año).

## **CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN**

- Enfermedades inflamatorias (como artritis reumatoide, Lupus eritematoso sistémico).
- Tratamiento con glucocorticoides o terapia de reemplazo hormonal.
- Tabaquismo activo.
- Menopausia.
- Datos clínicos o bioquímicos de infecciones agudas o crónicas.

## **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- Pacientes con muestra inadecuada para la medición y procesamiento de las citocinas y los marcadores de recambio óseo evaluados.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se describen las variables utilizando medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a las distribuciones de los datos. Para establecer normalidad en la distribución de las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para las asociaciones entre las variables cualitativas se utilizó prueba de ji cuadrada y para las variables cuantitativas se utilizará U de Man Whitney o prueba de t. Para establecer correlaciones entre variables cuantitativas se utilizó la prueba de Pearson o Spearman. Una  $p < 0.05$  fue considerada con significancia estadística. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico STATA versión 11.0.

### **Variables:**

#### **Demográficas**

- Edad
- Sexo

#### **Variable Independiente**

- s-PINP
- s-CTX

#### **Variables Dependientes**

- IL-6
- IL-1
- IL-10
- TNF- $\alpha$

#### **Variables confusoras**

- Nefropatía
- Tiempo de evolución
- HbA1c

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

- **Riesgo de la investigación:** Según la Ley general de Salud en materia de la investigación para la salud el presente estudio confiere un riesgo mínimo a los participantes (Artículo 17).
  - **Contribuciones y beneficios del estudio para los participantes y la sociedad en su conjunto:** Los pacientes no se verán beneficiados de forma directa. En cuanto a la utilidad del estudio, en caso de determinarse una asociación entre las citocinas y los marcadores de recambio óseo, se planeó la realización de estudios diagnósticos tempranos para prevenir la aparición de osteoporosis.
  - **Confidencialidad:** Se otorgó la seguridad al participante de que no se identificaron sus datos personales y se mantuvo la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad (Artículo 21 Fracción VIII de la Ley General de Salud).
  - **Condiciones en las que se solicitará consentimiento informado:** La carta de consentimiento informado se solicitó previo a la inclusión del participante al estudio, durante su seguimiento en la consulta externa. Fue solicitado por el investigador principal y colaboradores. El participante tuvo la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento de la investigación (Artículo 21, Fracciones I-VII de la Ley General de Salud).
- Forma de selección de participante:** Se incluyeron a los pacientes de la consulta externa que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión y autorice su inclusión al estudio mediante la carta de consentimiento informado.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los resultados aquí mostrados corresponden a un análisis preliminar en virtud de que los resultados correspondientes a los reactivos Propéptido N y Telopéptido C se encuentran en proceso.

Características basales de la población (n= 62)	
Parámetro	Mediana* (RI 25-75%)
Sexo Femenino	80%
Edad (años)	33.5 (24 – 46)
HbA1c (%)	8.5 (7.7 – 10)
Dep. Creat (ml/min)	69.5 (61.2 – 89.5)
Calcio (mg/dl)	9.4 (9 – 9.7)
Fósforo (mg/dl)	3.8 (3.5 – 4.3)
Vitamina D (ng/ml)	16 (12.5 – 21.2)
ALP (U/L)	82 (69.5 – 98.5)
Colesterol total (mg/dl)	188.5 (159 – 223.5)
C-HDL (mg/dl)	53 (43.2 – 65.5)
C-LDL (mg/dl)	104 (85.5 – 136)
Triglicéridos (mg/dl)	106 (74.5 – 172.2)
Leucocitos (#)	6.9 (5.8 – 8.1)
Neutrófilos (#)	4.05 (3.18 – 4.98)
Neutrófilos (%)	58 (51.4 – 62.4)

\* Se analizó normalidad utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov  
Los resultados se muestran como mediana (percentiles 25-75). HbA1c: Hemoglobina glucosilada; ALP: fosfatasa alcalina; C-HDL: colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad; C-LDL: colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad.

Para ambos géneros: la mediana de edad fue de 33.5 años (RI 24-46), con una mayor prevalencia del sexo femenino en un 80%. La mediana de depuración de creatinina fue de 69.5 con (RI 61.2-89.5), con una prevalencia del 30% de nefropatía. La mediana de Hemoglobina glucosilada fue de 8.5% (RI 7.7-10), con una prevalencia de neuropatía del 15% y de retinopatía del 31%. Respecto a la concentración de vitamina D la mediana para ambos géneros fue de 16 ng/mL (RI

12.5-21.2). La mediana de fosfatasa alcalina fue de 82 (RI 69.5-98.5), la del calcio de 9.4 (RI 9-9.7) y la del fósforo de 3.8 (RI 3.5-4.3).

## **DISCUSIÓN**

La osteoporosis tradicionalmente se ha relacionado con hombres y mujeres de edad avanzada así como con la deficiencia de estrógenos y el uso crónico de esteroides; sin embargo existen condiciones como la diabetes mellitus tipo 1 en la que los factores de regulación y crecimiento óseo se encuentran bajos, lo que predispone a aparición más temprana de la osteoporosis. Además de las complicaciones renales, oculares y neurovasculares que producen alteraciones visuales así como de la marcha y el equilibrio que aumentan el riesgo de caídas y fracturas de bajo impacto. Las citocinas son secretadas por células estromales del hueso, células del sistema inmune, del sistema hematopoyético y las células adiposas. Estas citocinas, ejercen un efecto importante en la regulación del metabolismo óseo, ya que estimulan principalmente la resorción ósea. El 64% de las causas de osteoporosis en los hombres son de origen secundario; por lo tanto, siempre deberán descartarse.

La nefropatía diabética y la deficiencia de vitamina D constituyen importantes factores de confusión, ya que pueden dar lugar a un hiperparatiroidismo secundario con el consecuente efecto del exceso de la hormona paratiroidea en el hueso. En nuestro estudio queda clara la alta prevalencia de la deficiencia e insuficiencia de vitamina D, así como la prevalencia de nefropatía en la tercera parte de nuestra población.

La hiperglucemia y los productos finales de glucosilación avanzada tienen efectos perjudiciales directos e indirectos sobre la función de los osteoblastos y la formación de hueso; además de inducir acumulación de lípidos en la médula ósea de los huesos largos, lo que conduce a su expansión con adelgazamiento de la cortical y disminución en la circulación de la médula ósea, lo que podría retardar la angiogénesis esencial en el proceso de reparación de fracturas y favorecer la destrucción de la microarquitectura del tejido óseo. Por lo anterior, el control glucémico continúa siendo la piedra angular en la prevención de la osteoporosis en el paciente con DM1.

El sistema óseo funciona como un órgano endocrino involucrado en la coordinación de la utilización de la energía a través de sus interacciones hormonales con otros tejidos. Se ha demostrado el papel anabólico de la insulina en el metabolismo óseo en modelos animales con insulinopenia en los que se observó supresión de los marcadores de osteoblastos; además de la insulinopenia, se encontró que la deficiencia relativa de IGF-1 contribuye a la baja densidad mineral ósea en la DM1 cuyo control glucémico deficiente afecta negativamente la producción de IGF-1 por el hígado; sin embargo se necesitan ensayos clínicos controlados aleatorizados para entender los mecanismos moleculares y celulares de la osteoporosis en la DM1.

## **CONCLUSIONES**

Los pacientes con DM1 tienen alteraciones en el metabolismo óseo. De acuerdo a estudios previos tienen hasta 10 veces más el riesgo de fractura en relación a la población general. La fisiopatología parece ser multifactorial, es probable que intervengan el hipoinsulismo, las concentraciones bajas de IGF-1 y el incremento de los factores proinflamatorios que acompañan a la DM1.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Clark P, Barrera CF, Guzmán C, Maetzel J, Lavielle A, Ramirez E, Robinson V, Rodriguez-Cabrera R, Tamayo J, Tugwell P. Osteoporosis int 2008;19:269-276
2. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis. Concepts, conflicts, and prospects. J Clin Invest 2005, 115:3318-3325
3. Shoback D. Update in Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:747-753
4. Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis Lancet 2006; 367:2010-2018
5. Cauley JA, Robbins J, Chen Z et al. Effect of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density. The WHI Trial. JAMA 2003; 290:1729-38
6. Togerson DJ, Bell-Syer SE. Hormone replacement therapy and prevention of nonvertebral fractures: a metaanalysis and randomized trials JAMA 2001; 285:2891-
7. Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Fuller JH, Stehouwer CD: Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes--the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia*. 2005;48(2):370-378.
8. Nadia ME, Nazrum SA, Isa NM, Norliza M, ImaNirwana. The anti-inflammatory, phytoestrogenic, and antioxidative Role of *Labisia pumlia* in Prevention of postmenopausal osteoporosis. *Adv Pharmacolo Sci* 2012; 2012:1-7
9. Selby PL, Shearing PA, Marshall SM. Hydroxiprolin excretion is increased in diabetes mellitus and related to the presence of microalbuminuria. *Diabet Med* 1995; 12:240-245
10. Jara A, Bover J, Felsenfeld AJ. Development of secondary hyperparathyroidism and bone disease in diabetic rats with renal failure. *Kidney Int* 1995;47:1746-51

11. Epstein S, Leroith D. Diabetes and fragility fractures- a burgeoning epidemic? Bone 2008; 43:3-6
12. Wongdee K, Charoenphandhu. Osteoporosis in diabetes mellitus: Possible cellular and molecular mechanism. World J Diabetes 2011;15; 41-48
13. Strotmeyer ES, Cauley JA. Diabetes mellitus, bone mineral density, and fracture risk. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2007; 14:49-35
14. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes a meta-analysis. Osteoporos Int 2007;18:427
15. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. Am J Epidemiol 2007; 166:495
16. Melton LJ 3<sup>rd</sup>, Leibson CL, Achenbach SJ, et al. Fracture risk in type 2 diabetes: update of population-based study. J Bone Miner Res 2008;23:1334 -42
17. Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoinmunology. Interactions of the bone and immune systems, Endocrine Rev 2008; 29:403-440
18. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N et al Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:3597-3692
19. Vasikaram S, Eastell R, Bruyere O. Markers of bone turnover the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. Osteoporosis Int 2011; 22:391-420

# ANEXO 1



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SXXI  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES  
Hoja de Registro Pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 1



Nombre: \_\_\_\_\_  
Número de afiliación: \_\_\_\_\_  
Edad: \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_ meses      Sexo: \_\_\_\_\_  
Escolaridad: \_\_\_\_\_      Ocupación: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_      Correo electrónico: \_\_\_\_\_  
Residente o MB que registra \_\_\_\_\_

## Antecedentes Heredo-Familiares

DM 1 (si) (no) \_\_\_\_\_      Enfermedad tiroidea (si) (no) \_\_\_\_\_  
DM 2 (si) (no) \_\_\_\_\_      Hipertensión arterial (si) (no) \_\_\_\_\_  
Obesidad (si) (no) \_\_\_\_\_      Cáncer (si) (no) \_\_\_\_\_  
Dislipidemias (si) (no) \_\_\_\_\_      Autoinmunes (si) (no) \_\_\_\_\_  
Otras: \_\_\_\_\_

## Antecedentes Personales No Patológicos:

a) Dieta (si) (no) \_\_\_\_\_      Apego (si) (no) \_\_\_\_\_      Kcal: \_\_\_\_\_  
b) Ejercicio (si) (no) Tipo \_\_\_\_\_      Frecuencia \_\_\_\_\_  
c) Tabaquismo (si) (no) Edad de inicio \_\_\_\_\_ # de años \_\_\_\_\_ # de cigarros \_\_\_\_\_ IT \_\_\_\_\_  
d) Alcoholismo (si) (no) Edad de inicio \_\_\_\_\_ # de años \_\_\_\_\_ Frecuencia \_\_\_\_\_  
e) Otras toxicomanías \_\_\_\_\_

## Antecedentes Personales Patológicos

a) Edad de diagnóstico: \_\_\_\_\_      Tiempo de evolución a la primera valoración \_\_\_\_\_  
b) Inició con: CAD ( ) Infección ( ) Otro \_\_\_\_\_  
c) Nefropatía diabética \* ( ) KDOQI/MDRD \_\_\_\_\_      Tiempo de evol. \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
d) Retinopatía diabética \* ( ) Proliferativa ( ) No proliferativa ( ) Fotocoagulación con láser ( )  
Tiempo de evol. \_\_\_\_\_      Otro tratamiento \_\_\_\_\_  
e) Fondo de ojo si ( ) no ( ) Fecha \_\_\_\_\_  
Diagnóstico \_\_\_\_\_  
f) Neuropatía diabética \* ( ) Tipo \_\_\_\_\_      Tiempo de evol. \_\_\_\_\_  
Reporte de EMG \_\_\_\_\_  
g) Uso de bitácora si ( ) no ( )  
h) Uso de hipoglucemiantes si ( ) no ( ) tipo \_\_\_\_\_      frecuencia \_\_\_\_\_  
i) Esquema de insulina 1. Rápida ( ) 2. Lispro ( ) 3. Otros \_\_\_\_\_  
Describa el esquema empleado:  
j) Hipoglucemia con esquema actual si ( ) no ( ) Frecuencia \_\_\_\_\_ (describir por día o semana)  
k) Hipertensión arterial si ( ) no ( ) Tiempo de evolución \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
l) Dislipidemia si ( ) no ( ) Tiempo de evol. \_\_\_\_\_      Tratamiento \_\_\_\_\_  
m) Enfermedades tiroideas si ( ) no ( ) Tipo \_\_\_\_\_      Tiempo de evol \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
n) Obesidad / sobrepeso si ( ) no ( ) Tiempo de evol. \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
o) Esteatosis hepática si ( ) no ( ) Tiempo de evol. \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
p) Otras enfermedades: \_\_\_\_\_  
Tratamiento: \_\_\_\_\_  
q) Fármacos empleados y no incluidos en párrafos anteriores \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO ACUERDO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

NOMBRE DEL ESTUDIO: "Asociación de las citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-10 y TNF $\alpha$ ) con los marcadores de recambio óseo (Propéptido N y Telopéptido C) en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 1"

**NOMBRE DE LA PERSONA A CARGO DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (MÉDICO DEL ESTUDIO O INVESTIGADOR PRINCIPAL):** DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA/DRA. RUTH CARMINA CRUZ SOTO

**DIRECCIÓN DEL CENTRO DEL ESTUDIO:** Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda. Centro Médico CMN SIGLO XXI

**NÚMERO TELEFÓNICO: 56276900 EXT 21551**

**México, D.F. a \_\_\_\_\_**

Usted está siendo invitado a participar en un estudio de investigación, haga tantas preguntas como sean necesarias antes de decidir si quiere participar en el estudio. Esta forma de consentimiento puede incluir palabras difíciles de entender, pida al médico o al personal del estudio que le expliquen cualquier palabra o hecho que no entienda.

#### ANTECEDENTES Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

La osteoporosis es un importante problema de salud, que predispone a fracturas que provocan dolor, limitación funcional, disminución de la calidad de vida y un gran incremento en los costos de la atención (1). La asociación entre la diabetes y la enfermedad del hueso continúa siendo poco clara (1). La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune en la cual las células del páncreas son destruidas ocasionando una incapacidad para mantener las concentraciones adecuadas de insulina en respuesta a los nutrientes. Se ha demostrado que los pacientes con DM1 presentan disminución de la formación e incremento en la destrucción del hueso (8). El conocimiento de los diferentes patrones de citocinas existentes ayudará a comprender los mecanismos de la pérdida de la masa ósea que se observa en pacientes con DM1.

Objetivo general: Comparar la concentración de sustancias inflamatorias con marcadores de formación y destrucción del hueso en los pacientes con DM1.

#### POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS

Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas. En algunas ocasiones el procedimiento para tomarle una muestra de sangre puede causar un poco de dolor, una discreta molestia o raramente un moretón que desaparece en menos de una semana. La toma será realizada por personal calificado y estaremos pendientes de la aparición de alguna complicación, la cual, en caso de presentarse será resuelta por nosotros.

#### PARTICIPACIÓN O RETIRO

Su participación consistirá en que le tomemos una muestra de sangre. Es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, de cualquier manera recibirá la atención médica que suele recibir en el IMSS, y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS. Usted puede hacer las preguntas que desee al inicio o a lo largo del estudio a las personas encargadas del estudio.

### **¿QUIÉN UTILIZARÁ Y COMPARTIRÁ INFORMACIÓN SOBRE MI PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

Su nombre no será divulgado fuera del hospital en donde usted está siendo tratado (a). Sus muestras sanguíneas y la información que proporcione, se almacenarán en diferentes sitios bajo un número de código, sin que aparezca su nombre u otra información que le identifique. Sin embargo, nosotros podremos identificarle si fuera necesario por motivos de investigación. Conforme a los lineamientos de las buenas prácticas clínicas, el investigador del estudio mantendrá su información personal por al menos 15 años.

Existen leyes nacionales e internacionales que obligan al médico del estudio a proteger la privacidad de sus registros médicos. Los investigadores, darán todos los pasos razonables para asegurar la confidencialidad y protección estricta de su información personal.

Usted tiene el derecho de ver sus registros. No obstante, si firma esta forma, quizás no pueda ver o copiar algunos de sus registros hasta después de que todos los participantes hayan concluido el estudio.

### **PERSONAL DE CONTACTO PARA DUDAS SOBRE SUS DERECHOS COMO PARTICIPANTE EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

Si usted tiene preguntas, dudas o quejas sobre este estudio, o para reportar una lesión relacionada con el estudio contacte por favor a: Dra. RUTH CARMINA CRUZ SOTO Tel. **56276900 Ext. 21553**

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, a los teléfonos: 56276900-21216, de 9 a 16:00 hrs.; o si así lo prefiere al correo electrónico: [conise@cis.go.mx](mailto:conise@cis.go.mx). La Comisión de ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

### **PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

- Usted **NO** recibirá pago alguno por participar en este estudio.

Si firma esta forma:

- Usted da permiso al médico y el personal del estudio de realizar sus registros médicos para llevar a cabo este estudio.
- Usted da permiso al médico de compartir sus registros con otros investigadores involucrados en este estudio. Estas personas utilizarán sus registros para revisar el estudio, para verificar la seguridad y los resultados.
- Usted da permiso al médico y al personal del estudio de utilizar algunos hechos derivados de su participación en este estudio en libros, revistas, diarios y reuniones científicas. Si esto pasara nadie utilizará su nombre u otra información que pudiera emplearse para identificarle.
- Usted da permiso, al médico del estudio de compartir todos sus registros y esta forma de consentimiento informado con la secretaría de salud (SSA), autoridades del IMSS y otras agencias de gobierno o regulatorias en los Estados Unidos Mexicanos y otros países. El médico del estudio puede también compartir sus registros médicos con el comité de revisión de investigación, con el grupo de revisión o con el comité de ética local de este hospital o clínica. Estas agencias pueden emplear sus registros para verificar la información del estudio, cómo están haciendo el estudio los investigadores, la seguridad de los participantes y los resultados.

Una vez que haya tenido todas sus preguntas contestadas y que se sienta seguro con su participación en este estudio, firme por favor aquí abajo.

\_\_\_\_\_  
Nombre de él/la participante en letra de molde

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha y hora

\_\_\_\_\_  
Nombre de él/la testigo en letra de molde

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha y hora

Doy fe de que él/la participante y/o su representante legal autorizado (nombrado arriba) tuvo suficiente tiempo para considerar esta información, tuvo una oportunidad para hacer preguntas, y voluntariamente convino en participar en este estudio.

**DRA VICTORIA MENDOZA ZUBIETA/DRA RUTH CARMINA CRUZ SOTO** Investigadores Principales

\_\_\_\_\_  
Firma del médico que explica el consentimiento

\_\_\_\_\_  
Fecha y hora