



**Universidad Nacional Autónoma de México**  
Curso de Especialización médica en Patología clínica  
División de estudios de posgrado  
Facultad de Medicina



**Instituto Mexicano del Seguro Social**  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
UMAE Hospital de Cardiología Dr. "Luis Méndez"

**Determinación de moléculas de adhesión endotelial (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina), riesgo cardiovascular, y grosor de la íntima media de la arteria carótida en pacientes con diabetes tipo 2 con más de 10 años de evolución y diabetes tipo 2 con hipertensión**

TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA

**Presenta**

**Dr. Carlos Yehudi Piña Hernández**

Médico Residente. Curso de Especialización en Patología Clínica

**Asesores**

**Dr. Miguel Cruz López**

Unidad de Investigación Médica en Bioquímica  
Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"  
Centro Médico Nacional Siglo XXI

**Dra. Alicia Contreras Rodríguez**

División de Estudios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento  
UMAE Hospital de Cardiología "Dr. Luis Méndez"  
Centro Médico Nacional Siglo XXI



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.

**DETERMINACION DE MOLECULAS DE ADHESION (ICAM-1, VCAM-1 Y E-SELECTINA), RIESGO CARDIOVASCULAR Y GROSOR INTIMA MEDIA DE LA CAROTIDA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 CON 10 AÑOS DE EVOLUCIÓN Y DIABETES TIPO 2 CON HIPERTENSION.**

El presente estudio pertenece al actual protocolo de investigación “Escaneo genómico completo del paciente con diabetes tipo 2 para la búsqueda de nuevos marcadores de asociación con la enfermedad” con autorización de la Comisión Nacional de Investigación Científica con número de registro R-2011-785-018, a cargo del Dr. Miguel Cruz López, Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica del Hospital de Alta Especialidad Médica (Dr. Bernardo Sepúlveda) Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

## Índice

Índice de figuras, tablas y anexos.....	iii
Abreviaturas.....	iv
1. Antecedentes científicos.....	1
2. Planteamiento del problema.....	12
3. Justificación.....	13
4. Objetivos.....	14
5. Hipótesis.....	15
6. Materiales y métodos.....	16
6.1. Diseño del estudio.....	16
6.2. Criterios de selección.....	16
6.3. Tamaño de la muestra.....	17
6.4. Definición y operacionalización de las variables.....	18
6.5. Análisis estadístico.....	26
6.6. Descripción general del estudio.....	27
6.7. Aspectos éticos.....	29
6.8. Recursos humanos y materiales.....	31
7. Resultados.....	32
8. Discusión.....	36
9. Conclusiones.....	39
10. Referencias Bibliográficas.....	40
11. Anexos.....	44

## Índice de figuras, tablas y anexos

<b>Figura 1.</b> Propiedades atero-protectoras del óxido nítrico (NO) generado por la sintasa de óxido nítrico.....	3
<b>Figura 2.</b> Vías de señalización intracelulares de la insulina.....	5
<b>Cuadro 1.</b> Mecanismos y marcadores de disfunción endotelial relacionados con DT2.....	8
<b>Tabla 1.</b> Parámetros basales antropométricos y clínicos de la muestra inicial por grupos de estudio.....	12
<b>Tabla 2.</b> Parámetros bioquímicos de los participantes por grupos de estudio.....	33
<b>Tabla 3.</b> Parámetros inflamatorios y riesgo cardiovascular a 10 años de acuerdo a cada grupo.....	34
<b>Tabla 4.</b> Parámetros de ultrasonido vascular de los participantes de acuerdo a la presencia de DT2 y DT2 con HTA.....	35
<b>Tabla 5.</b> Frecuencia de placas de ateroma por sexo y coexistencia de hipertensión...	16
<b>Anexo 1.</b> Carta de dictamen de autorización.....	44
<b>Anexo 2.</b> Cronograma de actividades.....	45
<b>Anexo 3.</b> Formato de recolección de datos.....	46
<b>Anexo 4.</b> Reporte de resultados de laboratorio.....	49
<b>Anexo 5.</b> Reporte de ultrasonido doppler carotídeo.....	50
<b>Anexo 6.</b> Carta de consentimiento informado.....	51

## Abreviaturas

**ACC:** Colegio Americano de Cardiología.  
**ADA:** Asociación Americana de la Diabetes.  
**AGEs:** productos finales de glicación avanzada.  
**AHA:** Asociación Americana del Corazón.  
**Akt:** serina-treonina quinasa  
**DT2:** diabetes mellitus tipo 2.  
**EDTA:** ácido etilendiaminotetraacético.  
**eNOS:** sintasa endotelial de óxido nítrico.  
**ENSANUT:** Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.  
**ET-1:** endotelina 1  
**EVC:** enfermedad vascular cerebral.  
**FFA:** ácidos grasos libres.  
**HbA<sub>1c</sub>:** hemoglobina glucosilada.  
**HDL-c:** colesterol de alta densidad.  
**HTA:** hipertensión arterial.  
**ICAM-1:** molécula de adhesión intracelular 1.  
**IFCC:** Federación Internacional de Química Clínica.  
**IL-1:** interleucina 1  
**IL-6:** interleucina 6 **IMC:** índice de masa corporal.  
**IMTc:** grosor de la íntima media de la arteria carótida.  
**LDL-c:** colesterol de baja densidad.  
**NF- $\kappa$ B:** factor nuclear kappa B  
**NGSP:** Programa Nacional de Estandarización de la Glicohemoglobina.  
**NO:** óxido nítrico.  
**NRS:** especie reactiva de nitrógeno.  
**OMS:** Organización Mundial de la Salud.  
**PA:** presión arterial.  
**PAI-1:** Inhibidor del activador del plasminógeno 1  
**PCK:** proteína quinasa C.  
**PI3-K:** fosfatidilinositol-3  
**PKC $\beta$ :** proteína quinasa C isoforma beta.  
**RAGE:** receptor de los productos finales de glicación avanzada.  
**ROS:** especies reactivas de oxígeno.  
**TNF- $\alpha$ :** factor de necrosis tumoral alfa.  
**VCAM-1:** molécula Molécula de adhesión celular vascular 1.  
**VSMC:** células del músculo liso vascular.



# 1. Antecedentes Científicos

## Introducción

La Diabetes Mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizada por hiperglucemia secundaria por defectos de secreción de insulina, acción de la insulina o ambos. La hiperglucemia crónica de la diabetes está asociada con daño a largo plazo, disfunción y falla de diferentes órganos; que incluye retinopatía con potencial pérdida de la visión, nefropatía y falla renal, neuropatía periférica y autonómica e incremento en la incidencia de enfermedad cardiovascular, arterial periférica y cerebrovascular<sup>1</sup>.

La enfermedad cardiovascular incluye un grupo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos, que la ubican en la primera causa de muerte en el mundo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, se estima que 17.3 millones de personas murieron a causa de enfermedades cardiovasculares en el 2008, representando un 30% de la mortalidad global. De estas muertes, 7.3 millones fueron consecuencia de enfermedad coronaria y 6.2 millones debido a eventos cerebrovasculares. Los países de bajo y mediano ingreso se ven desproporcionadamente afectados, ya que más del 80% de las muertes por enfermedad cardiovascular tienen lugar en estos países y ocurre casi equitativamente tanto en hombres como en mujeres<sup>2</sup>. En México, la primera causa de mortalidad en ambos géneros son las enfermedades cardiovasculares; reportándose un total de 109309 defunciones en el 2012, y la segunda causa de mortalidad se atribuye a la diabetes mellitus<sup>3</sup>. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, se identificaron 6.4 millones de adultos mexicanos con diagnóstico de diabetes mellitus y se estima que el total de personas adultas con diabetes podría ser incluso el doble, según la evidencia previa sobre el porcentaje de diabéticos que no conocen su condición.<sup>4</sup> Tomando en cuenta las estadísticas nacionales e internacionales, es evidente que la causa más frecuente de mortalidad en el adulto son las enfermedades crónicas no transmisibles, destacando en primer lugar las cardiopatías, la diabetes mellitus y el evento cerebrovascular, cuyo evento fisiopatológico común es la aterosclerosis<sup>5</sup>.

Los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DT2) tienen dos a cuatro veces mayor riesgo de mortalidad secundaria a enfermedad arterial coronaria. Cuando se establece la cardiopatía aterosclerosa el riesgo aumenta cuatro a siete veces; esto contribuye hasta con un 70% de la mortalidad en los pacientes con DT2 y se precisa que a los 10 años de evolución de ser diabético, el 40% tendrá un evento coronario. La reducción de la expectativa de vida de estos pacientes es de 8 a 10 años en el rango de edad de los 40 a 70 años.

Los factores de riesgo intervienen de distinta manera en el proceso aterogénico y de aterotrombosis, siendo los de mayor prevalencia la obesidad, hipertensión arterial (HTA), DT2, dislipidemias, tabaquismo y otros. El endotelio es el blanco común de todos los factores de riesgo vascular, a los que responde con daño celular antes del desarrollo visible de aterosclerosis. Algunos

factores de riesgo están relacionados con el incremento de la expresión de moléculas de adhesión endotelial incluyendo ICAM-1, VCAM-1 y selectinas.<sup>6</sup> El daño endotelial induce una respuesta inflamatoria crónica mediada por los macrófagos derivados de los monocitos. Durante este proceso, los macrófagos y otras células del sistema inmune se acumulan en el espacio de la íntima-media de la pared vascular junto con el colesterol, calcio y restos celulares. La liberación de citoquinas por la migración de las células inmunes inicia la interacción entre las células inmunes, células endoteliales y células del músculo liso vascular, las cuales sufren cambios morfológicos como resultado de la proliferación de células de músculo liso vascular, migración, necrosis celular y formación de la placa aterosclerótica. La remodelación vascular de estas células contribuye a la elaboración de una densa matriz extracelular característica de una lesión aterosclerótica más avanzada, dando como resultado una obstrucción luminal del flujo sanguíneo y una disminución consecuente en la provisión de oxígeno a los tejidos.<sup>7</sup> Sin embargo, el proceso inflamatorio no solo promueve la iniciación y evolución del ateroma, sino también contribuye decisivamente en complicaciones trombóticas agudas secundarias a la disrupción física de la placa aterosclerótica, siendo esta la causa más común de cardiopatía isquémica coronaria aguda.<sup>8</sup>

El riesgo cardiovascular proporciona el parámetro de referencia en el que se basan las decisiones terapéuticas y se norman las metas de control de los factores de riesgo presentes en cada paciente para evitar el desarrollo de aterosclerosis y sus complicaciones<sup>4</sup>. La información acumulada indica que los conocimientos adquiridos a partir de la relación entre inflamación y la aterosclerosis pueden proporcionar información predictiva y pronóstica de considerable utilidad clínica.<sup>7</sup>

## El endotelio vascular: definición, estructura y función.

El término endotelio, fue acuñado en 1865 por el anatomista Wilhelm His, que lo definió como el revestimiento celular de los vasos sanguíneos y linfáticos. Actualmente se considera al endotelio, como una capa monocelular que separa a todos los tejidos de la sangre circulante. El endotelio proviene del mesodermo por la diferenciación de los hemangioblastos a pre-célula endotelial y posteriormente a un linaje hematopoyético comprometido o a célula endotelial. La estructura anatómica del endotelio es simple y linear que consta de una capa única de células mesenquimales. Sin embargo, desde el punto de vista metabólico, el endotelio es un tejido extremadamente complejo. Las células endoteliales son típicamente planas y su grosor varía desde 0.1  $\mu\text{m}$  en capilares a 1.0  $\mu\text{m}$  en la aorta. La membrana de la célula endotelial está compuesta por una bicapa de fosfolípidos que la atraviesan proteínas que funcionan como receptores o canales.<sup>9</sup>

El endotelio vascular sirve como un importante órgano autócrino y parácrino y mantiene la homeostasis vascular: modulando el tono vascular, regulando el crecimiento celular local y controlando la respuesta inflamatoria a través de la expresión de moléculas vasculoregulatoras y vasculotrópicas que actúan a nivel local o a distancia.<sup>10</sup>

El mediador más significativo derivado del endotelio es el óxido nítrico (NO), el cual tiene un papel fundamental en la regulación del tono y presión vascular. El NO es producido por la sintasa endotelial de NO (eNOS) y se difunde en las células del músculo liso vascular (VSMC).<sup>11</sup> El NO, inhibe la adhesión y agregación plaquetaria, la proliferación de células de músculo liso vascular (VSMC) y la transcripción de moléculas de adhesión leucocitaria incluyendo la molécula de adhesión celular vascular (VCAM-1), molécula de adhesión intracelular (ICAM-1)<sup>11,12</sup> y E-selectina (Figura 1).<sup>13</sup>



**Figura 1.** Propiedades atero-protectoras del óxido nítrico (NO) generado por la sintasa de óxido nítrico. LDL-C: colesterol de baja densidad (Imagen modificada de Sena C et al. Biochim Biophys Acta 2013;1832:2216-2231).

## **Disfunción endotelial**

Las células endoteliales pueden activarse sin ser disfuncionales, ya que el endotelio continuamente detecta y responde a cambios del ambiente extracelular local. El término activación refleja la capacidad del endotelio a realizar nuevas funciones sin evidencia de daño celular o disfunción. El concepto de activación nació de estudios *in vitro* demostrando la habilidad de las células endoteliales de inducir la expresión de antígenos en la superficie por un estímulo bien definido; y la disfunción endotelial es secundaria a una respuesta adaptativa excesiva, sostenida, o espacial y temporalmente fuera de lugar.<sup>9</sup>

La disfunción endotelial es la incapacidad de las células endoteliales de regular la homeostasis vascular y esencialmente predispone a la pared vascular hacia un desbalance fisiológico con efectos vasoconstrictores, remodeladores, pro-inflamatorios y pro-troboóticos que promueven la aterosclerosis y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.<sup>11,14</sup>

La característica distintiva de la disfunción endotelial es la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, debido a un decremento en la expresión y/o actividad de la eNOS. Esta enzima dimérica, depende de múltiples cofactores para su funcionalidad.<sup>12,15</sup>

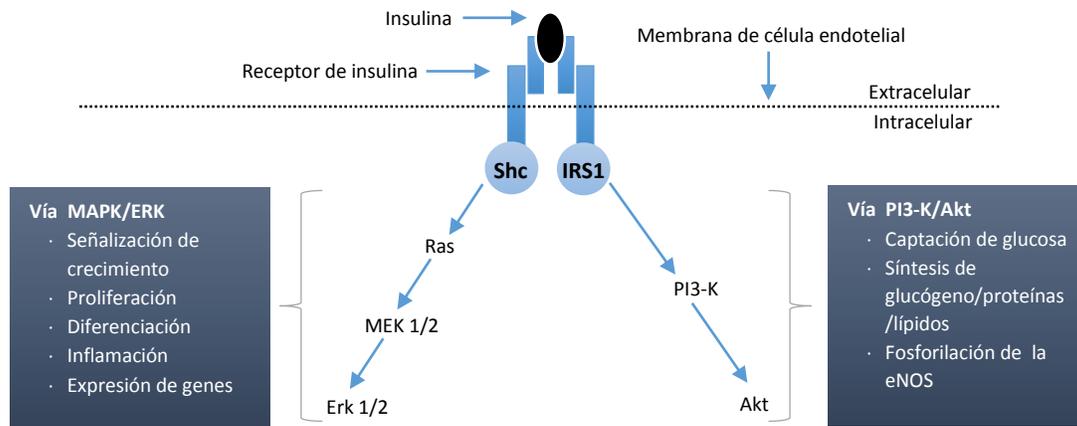
## **Disfunción del endotelio vascular en diabetes mellitus tipo 2**

### **Resistencia a la insulina y disfunción del endotelio**

Los mecanismos patogénicos fundamentales de la enfermedad macrovascular asociada a la diabetes incluyen disfunción endotelial, inflamación vascular acentuada e incremento del estrés oxidativo debido a la prolongada exposición a la hiperglucemia, junto con otros factores de riesgo como hipertensión arterial, dislipidemia y susceptibilidad genética.<sup>10,16</sup>

Los efectos perjudiciales de la glucosa ya ocurren con niveles de glucemia por debajo del umbral para el diagnóstico de diabetes. La alteración temprana de la glucemia causada por la resistencia o alteración en la secreción de insulina es responsable de los cambios funcionales y estructurales del endotelio vascular.<sup>16</sup> La insulina es un regulador normal de la activación de la eNOS y la producción de NO a través de la exitosa fosforilación de dicha enzima. Más específicamente, la insulina estimula la vía de la quinasa fosfatidilinositol-3/Serina-treonina quinasa (PI3-K/Akt), la cual potencia la activación de la eNOS y la subsecuente producción de NO.<sup>17</sup> En contraste, la estimulación de la vía proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK)/quinasa de regulación de señalización extracelular (ERK), promueve la expresión de endotelina-1 (ET-1), inhibidor del activador del plasminógeno I (PAI-1), la expresión de moléculas de adhesión celular, proliferación de las VSMC, y en tejido adiposo, la liberación de ácidos grasos libres (FFA).<sup>12</sup> En circunstancias fisiológicas, la vía PI3-K/Akt predomina para regular el control vasomotor normal. Sin embargo en la resistencia a la insulina que

caracteriza a la DT2, hay una inhibición de la vía PI3-K/Akt mientras que la señalización de la vía MAPK/ERK está intacta, dando como resultado una señalización pro-aterogénica (Figura 2).<sup>11</sup>



**Figura 2.** Vías de señalización intracelulares de la insulina. Al unirse a su receptor, la insulina inicia dos vías de señalización claves. La activación de la vía PI3-K/Akt predomina bajo condiciones fisiológicas, resultando en un efecto anti-aterogénico. En la resistencia a la insulina, la vía MAPK/ERK predomina sobre la vía PI3-K/Akt, cuyos efectos son predominantemente pro-aterogénicos. (Imagen modificada de Roberts and Porter Diab Vasc Dis Res 2013;10(6):472-482)

## Hiperglicemia y disfunción del endotelio

La producción de especies reactivas de oxígeno por la hiperglicemia involucra varios mecanismos celulares, la vía del poliol y la hexosamina, los productos finales de glicación avanzada (AGEs), la activación de la proteína quinasa C (PKC) y la inflamación vascular mediada por NF- $\kappa$ B. La hiperglicemia induce una elevación de los niveles de diacilglicerol en las células endoteliales, con la subsecuente activación de la isoforma PKC $\beta$ . La PKC $\beta$  activada es responsable de diferentes cambios estructurales y funcionales en la vasculatura, incluyendo la permeabilidad celular, expresión amplificada de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina), angiogénesis, crecimiento celular, expansión de la matriz extracelular y apoptosis. La activación de la PKC $\beta$  incrementa la expresión de la NADPH oxidasa vascular, la cual produce el anión superóxido en grandes cantidades.<sup>11,16,18</sup> La generación del anión superóxido ( $O_2^-$ ), reacciona directamente con el NO para formar peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), una potente especie reactiva de nitrógeno (NRS) que penetra fácilmente la membrana de la célula endotelial. El peroxinitrito inhibe la actividad de las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa), desacopla la eNOS por la nitrosilación de su cofactor tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ) sintetizando preferentemente  $O_2^-$  en vez de NO, y además, actúa como contra-regulador de la vía PI3-K/Akt.<sup>11,16,19</sup>

La activación de la PKC en diabetes induce la liberación de vasoconstrictores, como la ET-1. La sobrerregulación de la ciclooxigenasa-2 (COX2) mediada por la PKC, se asocia a un incremento de tromboxano A2 y a una reducción de la liberación de prostacilina (PGI2), la cual es un potente agente

antiproliferativo de las VSMC, reductor del estrés oxidativo y de la adhesión celular al endotelio vascular.<sup>12,16</sup>

La hiperglucemia incrementa el gradiente de protones dentro de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, incrementando la salida del anión superóxido y así, contribuye a la formación de peroxinitrito.<sup>11</sup> Además, las especies reactivas de oxígeno (ROS) mitocontriales, incrementan los niveles intracelulares del metabolito de la glucosa metilglioxal y la síntesis de AGEs. La generación de AGEs lleva a la activación del receptor AGEs (RAGE). En respuesta, la señalización de AGE-RAGE activa la vía de hexosamina involucrada en la glicosilación de la región eNOS de la proteína Akt que lleva a una reducción de la actividad de la eNOS.<sup>16</sup> Se ha observado que la interacción AGE-RAGE incrementa la liberación de factor tisular, la secreción de interleucina-6 (IL-6), la expresión de VCAM-1 y altera la permeabilidad de la barrera endotelial.<sup>10</sup> La hiperactivación de la vía del poliol por la producción de ROS inducida por la glucosa, se ha relacionado con disfunción endotelial.<sup>16</sup> Recientemente, los productos endógenos del metabolismo de la arginina, como la dimetil-L-arginina asimétrica (ADMA) que inhibe el NO,<sup>15</sup> se ha implicado en la aterosclerosis diabética.<sup>17</sup>

Las citoquinas, la activación del RAGE y los FFA llevan a la sobregulación del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B)<sup>11</sup>, y por lo tanto, la transcripción de genes pro-inflamatorios que codifican para E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1.<sup>20</sup> Este evento facilita la adhesión de los monocitos al endotelio vascular, el rodamiento, la diapédesis en el subendotelio y la subsecuente formación de células espumosas. La secreción de interleucina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) por los macrófagos activados, mantiene la sobre-regulación de las moléculas de adhesión a través de la señalización de NF- $\kappa$ B en el endotelio.<sup>12,16</sup>

### **Papel funcional de las selectinas en la interacción leucocito-endotelio**

El primer contacto de los leucocitos circulantes en sangre con las células endoteliales están mediados por las tres selectinas (Endoteliales E- y P-; Leucocitaria L-, CD62E, CD62P, CD62L respectivamente) y sus ligandos.<sup>21,22</sup> El contacto y rodamiento es el primer paso del proceso secuencial de extravasación, seguido de la adhesión firme y migración transendotelial.<sup>23</sup> La E-selectina, la que forma parte en el estudio, es una glucoproteína que se expresa *de novo* en la superficie de la célula endotelial a través de la activación de NF- $\kappa$ B. La P-selectina, en contraste, es constitutivamente sintetizada en las células endoteliales y plaquetas y almacenada en los cuerpos de Weibel-Palade y gránulos  $\alpha$ , respectivamente;<sup>24</sup> es rápidamente traslocada a la superficie por la estimulación de mediadores de inflamación como trombina, histamina, y factor activador de plaquetas.<sup>21</sup> La L-selectina está constitutivamente expresada en los leucocitos y es responsable de la amplificación de la respuesta inflamatoria a través de las interacciones leucocito-leucocito.<sup>24</sup> Las tres selectinas se unen a ligandos de carbohidratos fucosilados y sialisados y el principal ligando para L-selectina, E-selectina y P-selectina, es la glucoproteína P-selectina ligando-1 (PSGL-1) que se

encuentra en las microvellosidades de los leucocitos.<sup>21,24</sup> Las isoformas solubles circulantes (sE, sP, sL-selectina) se deben a su clivaje proteolítico de la porción extracelular.<sup>25,26</sup>

### **Papel funcional de las moléculas VCAM-1 e ICAM-1 en la interacción leucocito endotelio**

Las moléculas VCAM-1 e ICAM-1 son glucoproteínas transmembrana que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Son las principales moléculas de adhesión endotelial implicadas en la unión a las integrinas VLA-4 (antígeno de activación retardada -4) y LFA-1 (antígeno asociado a la función de linfocito -1), respectivamente.<sup>23,27</sup> ICAM-1, es expresada predominantemente en células endoteliales, epiteliales y leucocitos (macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células dendríticas del timo, ganglios linfáticos, tracto gastrointestinal, piel, hígado y células hematopoyéticas de la médula). Además de ser receptor de las integrinas LFA-1 (CD11a/CD18) y Mac-1 (CD11b/CD18), también es un receptor para el fibrinógeno.<sup>28</sup> Es crucial en la fase de firme adhesión y migración de los leucocitos en el sitio de inflamación.<sup>22,23</sup> Su forma soluble (sICAM-1) se produce por clivaje proteolítico de la membrana celular o directamente por las células.<sup>26-28</sup> Está presente en fluidos corporales como líquido céfaloraquídeo, líquido sinovial, saliva, orina y secreciones bronquiales. VCAM-1 se expresa en las células endoteliales, fibroblastos que cubren superficies sinoviales, condrocitos, macrófagos tisulares, células epiteliales del timo, células dendríticas y pericitos de los tejidos neurales. Además de ser receptor para VLA-4, interactúa con la proteína secretada ácida y rica en cisteínas (SPARC), una molécula que induce la modificación del citoesqueleto para la trans migración.<sup>28</sup> Su forma soluble (sVCAM-1) ha sido encontrada solamente en suero por clivaje proteolítico de la membrana celular.<sup>26-28</sup>

Los niveles de E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1, están relacionados con la edad. Se ha observado que los niños pre-escolares y escolares sanos tienen niveles circulantes más altos que los adultos y los niveles descienden significativamente entre los 9 y 16 años de edad. Estudios en adultos sugieren que los niveles de estas moléculas son constantes entre los 18 y 65 años, aunque se han dado pocos detalles.<sup>29</sup> También se ha observado que los niveles de estas moléculas están más elevados en hombres que en mujeres, probablemente vinculado con los niveles de estrógeno, ya que las concentraciones en mujeres sanas postmenopáusicas con terapia de reemplazo hormonal son menores que las que no tienen terapia de reemplazo. En estudios *in vitro* se ha demostrado que el estrógeno es un regulador negativo de la expresión de moléculas de adhesión.

Las concentraciones de las formas solubles de las moléculas de adhesión E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 se han visto incrementadas en una variedad de condiciones inflamatorias.<sup>25</sup> Estudios transversales han mostrado una concentración elevada de estas moléculas en sujetos con diabetes tipo 2<sup>30</sup>, no diabéticos con resistencia a la insulina, obesidad, hipertensión y dislipidemia.<sup>26</sup> Las moléculas ICAM-1 y VCAM-1 tienen una participación fundamental en las etapas tempranas de aterosclerosis y sus complicaciones; y ambas moléculas se han identificado en lesiones ateroscleróticas.<sup>17,25,28,31</sup>

Diversos biomarcadores de disfunción endotelial se han visto alterados en diabetes mellitus (Tabla 1). ICAM-1 y VCAM-1 forman parte de los cinco principales biomarcadores circulantes asociados a disfunción vascular (más proteína c reactiva, TNF- $\alpha$  e IL-6), que han probado dar información pronóstica del desenlace y progresión de la enfermedad en pacientes diabéticos.<sup>17</sup>

<b>Cuadro 1 Mecanismos y marcadores de disfunción endotelial relacionados con DT2</b>			
Mecanismos	Biomarcadores	Estado	Manifestación
Resistencia a la insulina	ICAM-1	↑	Disminución de vasodilatación
	VCAM-1	↑	
	IL-1, IL-6	↑	
Hiper glucemia	TNF- $\alpha$	↑	
Incremento del estrés oxidativo	MCP-1	↑	
	E-selectina	↑	
Reducción de la producción de NO	VEGF	↑	Incremento de aterogénesis
Incremento del estado inflamatorio	ET-1	↑	
	PAI-1	↑	
Elevación de ácidos grasos libres	Fibrinógeno	↑	Alteración en la remodelación arterial
	Vwf	↑	
Productos finales de la glicación	Niveles de glucosa	↑	Incremento de la rigidez arterial
	Insulina	↑	
Disfunción de las VCSM	HbA <sub>1c</sub>	↑	
Disfunción endotelial	EPCs	↓	
	ADMA	↑	
	Homocisteína	↑	

ADMA: dimetilarginina asimétrica; EPC: célula endotelial progenitora; ET: endotelina; HbA<sub>1c</sub>: hemoglobina glucosilada; ICAM: molécula de adhesión intracelular; IL: interleucina; MCP: proteína quimioatrayente de monocitos; PAI: inhibidor del activador del plasminógeno; TNF: factor de necrosis tumoral; VCAM: molécula de adhesión celular vascular; VEGF: factores de crecimiento vascular endotelial, vFW: factor de von Willebrand; ↑= Incrementado, sobre regulado; ↓=disminuido, inhibido.  
(Tabla modificada de Tousoulis D et al. J Am Coll Cardiol 2013;62:667-676)

## Moléculas de adhesión, hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo 2

La hipertensión arterial (HTA) en México tiene una prevalencia del 31.5% en la población mayor de 20 años. La HTA es más común en los individuos con diabetes que en la población general. El 65.6% de los pacientes diabéticos son hipertensos, lo cual ha llegado a plantear a los investigadores la posibilidad de un nexo fisiopatológico que las ligue entre sí.<sup>4</sup> Tanto la HTA como la DT2 son factores de riesgo independientes de enfermedad cardiovascular.<sup>32</sup> Cuando coexisten, tienen un efecto multiplicador en complicaciones micro y macrovasculares, ya que los diabéticos con HTA tienen dos veces más riesgo de sufrir un evento cardiovascular y muerte comparado con aquellos diabéticos que tienen presión arterial normal.<sup>33,34</sup> La presencia de HTA en estos pacientes, contribuye en el desarrollo y la progresión de las complicaciones crónicas de la diabetes, acelerando su morbilidad y mortalidad.<sup>35</sup> Por otra parte, los hipertensos tienen un riesgo 2.5 veces superior de desarrollar DT2.<sup>36</sup> En pacientes con DT2, la HTA puede estar presente al momento del diagnóstico o aun antes de desarrollarse la hiper glucemia y a menudo es parte de un síndrome que incluye intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, obesidad, dislipidemia y enfermedad arterial coronaria, constituyendo el denominado síndrome metabólico.<sup>37</sup> El nexo fisiopatológico parece ser un aumento

del volumen extracelular y el incremento de las resistencias vasculares periféricas secundarias al hiperinsulinismo, y activación simpática que genera mayor rigidez arterial, así mismo, la hiperglucemia por si sola genera una toxicidad directa sobre las células endoteliales incrementando su rigidez. A todo ello, hay que añadir el estado de vasoconstricción incrementado en la arterioesclerosis acelerada, característica de la vasculatura diabética.<sup>38</sup> El estudio PROSPECT (Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree) que incluyó a 697 pacientes, estudiados mediante histología virtual intracoronaria tras un procedimiento de revascularización percutánea en el contexto de un síndrome coronario agudo con un seguimiento a 3 años demostró que la DT2, el antecedente de revascularización coronaria previa y las placas fibroateromatosas de cápsula delgada eran los principales determinantes del desarrollo de nuevos síndromes coronarios agudos y que la presencia de HTA también fue un predictor independiente (HR = 1.64; IC95%, 1.03-2.6;  $p=0,04$ ), pero este dato no se incluyó en la publicación final y quedó detallado únicamente en la información suplementaria.<sup>39</sup>

Hay un creciente cuerpo de datos de ensayos clínicos controlados que indican que el control riguroso de la presión arterial (PA) reduce notablemente las enfermedades cardiovasculares, la morbilidad y la mortalidad en personas con diabetes tipo 2.<sup>40,41,42,43</sup> El Séptimo Reporte del Comité Nacional Conjunto sobre Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión (JNC7) había establecido la meta de control terapéutico de la PA en pacientes diabéticos menor de 130/80 mmHg.<sup>44</sup> El último Reporte del Comité (JNC8); ha redefinido la hipertensión en los pacientes diabéticos de edad igual o mayor de 18 años; debiéndose iniciar tratamiento farmacológico cuando la PA sistólica es  $\geq 140$  mmHg y/o la PA diastólica es  $\geq 90$  mmHg y establece una meta terapéutica de PA sistólica/diastólica menor de 140/90 mmHg. El comité reconoce que una PA sistólica  $< 130$  mmHg es comúnmente recomendada para los pacientes con DT2 e HTA. Sin embargo, esta meta no se apoya en ningún estudio que haya dividido a los participantes de manera aleatoria en dos o más grupos en los cuales, el tratamiento haya iniciado en un umbral de PA sistólica  $< 140$  mmHg. Por lo tanto, la recomendación anterior surge en base al estudio ACCORD-BP; el cual es el único estudio que compara una meta terapéutica de PA sistólica  $< 140$  mmHg contra una meta de PA sistólica menor; y que aborda los efectos clínicos importantes. Este estudio compara una meta terapéutica de PA sistólica  $< 120$  mmHg con una meta terapéutica  $< 140$  mmHg. Con una media de seguimiento de 4.7 años, en el que no hubo diferencia en el resultado primario, en la muerte cardiovascular, en infarto al miocardio no fatal ni en evento cerebrovascular no fatal.<sup>43,45</sup> Los estándares de cuidado médico de 2014 de la ADA, recomienda tratar la HTA en pacientes diabéticos con una meta de PA sistólica  $< 140$  mmHg y una PA diastólica  $< 80$  mmHg, y para pacientes jóvenes con larga expectativa de vida recomienda una meta terapéutica de PA sistólica  $< 130$  mmHg.<sup>46</sup>

Boulbou y colaboradores se ha dedicado en los últimos años a estudiar el comportamiento de las moléculas de adhesión en los pacientes con DT2, mostrando el incremento en la concentración de

ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina en comparación a los sujetos no diabéticos. En los pacientes con DT2 (ambos grupos, con HTA y sin HTA) mostró un aumento significativo de los niveles de E-selectina en comparación al grupo de sujetos sanos, mientras que el grupo de pacientes con HTA no diabéticos mostró un incremento de E-selectina y VCAM-1. El grupo de pacientes con DT2 e HTA no mostró un efecto aditivo en comparación con el grupo de pacientes con DT2 sin HTA y el grupo con HTA no diabéticos.<sup>47</sup> Estos resultados han sido contradictorios con otros autores que han observado mayor incremento en ICAM-1.<sup>48</sup> Estos resultados diferentes pueden basarse en la población estudiada y al tratamiento de estos pacientes que modifican las concentraciones de estas moléculas de adhesión.

La mayor concentración de ICAM-1 en los sujetos que cursaban con las dos patologías, es una razón más para explicar la mayor frecuencia de complicaciones en ellos.<sup>49</sup> El estudio Edimburgo mostró que el nivel de ICAM-1, es un marcador inflamatorio que se asocia con aterosclerosis y enfermedad arterial periférica, tanto en población general como en sujetos diabéticos. Probablemente porque la presencia de ICAM-1 en sitios donde se forman las lesiones vasculares se debe a que esta molécula retiene a los leucocitos en el sitio de inflamación, lo que favorece la permanencia de los mismos en el sitio de la lesión, prolongando el proceso inflamatorio y favoreciendo el desarrollo de lesiones crónicas, como las placas de ateroma.<sup>50</sup> Por lo anterior podemos pensar que en los pacientes con DT2 e HTA existe mayor activación endotelial, y es la causa para explicar un mayor daño endotelial con mayor desarrollo de aterosclerosis en comparación a los pacientes con DT2 únicamente.

### **La ultrasonografía carotídea como herramienta diagnóstica de aterosclerosis.**

Una de las razones por la cual la enfermedad cardiovascular permanece como la principal causa de muerte en pacientes diabéticos, es por la dificultad del diagnóstico temprano de aterosclerosis en las arterias coronarias.<sup>51</sup> La frecuencia de isquemia miocárdica silente en pacientes diabéticos es de 3 a 6 veces más elevada que en pacientes no diabéticos. De acuerdo con el estudio Detection of Ischemia in Asymptomatic Diabetes (DIAD), 22% de los pacientes diabéticos asintomáticos de 50 a 70 años de edad demostró tener isquemia miocárdica silente por gammagrafía de perfusión miocárdica.<sup>52</sup> Se ha demostrado que la evaluación del riesgo cardiovascular basada en factores de riesgo convencionales (DT2, hipertensión, dislipidemia, obesidad) tiene moderada efectividad. En contraste, estudios sofisticados de imagen como la angiotomografía coronaria y la gammagrafía de perfusión miocárdica, muestran una alta sensibilidad y especificidad en determinar la severidad de la enfermedad. Sin embargo, es poco realista emplear estos procedimientos como primera línea diagnóstica, debido a las limitaciones que presenta por efectos adversos, dificultad técnica, disponibilidad y alto costo. Por estas razones, es necesaria una herramienta no invasiva y de bajo costo que ofrezca una mayor predicción de aterosclerosis subclínica en individuos con alto riesgo cardiovascular.<sup>51</sup><sup>51</sup>

La medición del grosor de la íntima media de la arteria carótida (IMTc) en la arteria carótida común se describió por vez primera, en 1986 por Pignoli y colaboradores.<sup>53,54</sup> Desde entonces, esta técnica ha sido ampliamente utilizada para la evaluación del grosor de la pared arterial *in vivo*, con alta reproducibilidad y buena correlación con los principales factores de riesgo cardiovascular, enfermedad prevalente, severidad de la aterosclerosis en otros vasos sanguíneos; y la predicción de eventos cardiovasculares.<sup>53</sup>

En la actualidad existen diferentes protocolos de medición con el fin de incrementar la sensibilidad, especificidad y correlación con enfermedad cardiovascular, dentro de ellos, el más utilizado es el que integra un único valor promedio tomando diferentes segmentos de la arteria carótida tanto derecha como izquierda (arteria carótida común, bifurcación y carótida interna).<sup>55,56</sup>

Los valores normales del IMTc están influenciados por la edad y sexo. El punto de corte para caracterizar lo normal suele ser arbitrario, y en general, se ubica por encima del percentil 75 de la población estuda. El rango de valores del IMTc combinado en adultos, oscila entre 0.4mm y 1.0 mm. El IMTc se incrementa, como ya mencionamos, en relación al número de factores de riesgo asociados a cada paciente y refleja la severidad de la aterosclerosis sistémica.<sup>51</sup> Por cada aumento absoluto de 0.1 mm del IMTc combinado, incrementa el riesgo de cardiopatía isquémica en un 15% y de un evento vascular cerebral (EVC) en un 18%.<sup>52,57</sup>

Así mismo, un aumento del IMTc combinado mayor de 0.89mm se ha relacionado a una frecuencia anual de IAM/ECV del 1.36% y del 8.16% a los 6 años.<sup>58</sup>

La presencia de placas de ateroma en el ultrasonido carotideo, es un fuerte predictor de evento cardiovascular independiente del IMTc. La presencia de placa obstructiva o no obstructiva, aumenta 6 y 4 veces el riesgo de evento cardiovascular.<sup>59</sup> Störks y colaboradores señalaron que el número total de placas, era mejor predictor de mortalidad cardiovascular a los 4 años que la severidad de las mismas.<sup>60</sup>

## Planteamiento del problema

La prevalencia de DT2 en México se ha incrementado en las últimas décadas, constituyendo un problema de salud pública. Actualmente, la DT2 figura como la segunda causa de muerte en nuestro país. Por otro lado, la prevalencia de HTA también se ha incrementado en la población mayor de 20 años, hasta afectar a 1 de cada 3 adultos mexicanos. La tendencia actual de la HTA se ha mantenido estable en los últimos 6 años, con una prevalencia en la población general adulta del 31.5%. Sin embargo, en la población diabética mexicana, la coexistencia de HTA es más común en que la población general, alcanzando una prevalencia del 65.6%.

Es conocido que estas dos entidades (la DT2 e HTA), de manera independiente contribuyen en el desarrollo de enfermedad cardiovascular; la cual es la primera causa de muerte en la población mexicana. Numerosos estudios han permitido entender el vínculo que existe entre estas dos patologías con la inflamación y aterosclerosis. Existe evidencia, que tanto la diabetes como la hipertensión, inducen un grado bajo de inflamación crónica a nivel endotelial, produciendo un aumento en las concentraciones de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina.

Los estudios que han evaluado las concentraciones de moléculas de adhesión endotelial cuando las dos comorbilidades están presentes han sido inconsistentes, ya que no se ha podido establecer de manera concluyente si la HTA en los pacientes diabéticos refleja un efecto aditivo en la inflamación a través de la determinación de las moléculas de adhesión endotelial.

### **Preguntas de investigación:**

1. ¿Estarán más elevadas las concentraciones séricas de moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina en pacientes con DT2 con más de 10 años de evolución e HTA, en comparación con el grupo pacientes con DT2 sin HTA?
2. ¿El IMTc combinado estará más incrementado en pacientes con DT2 con más de 10 años de evolución e HTA en comparación con el grupo de pacientes con DT2 sin HTA?
3. ¿Existirá incremento en el riesgo cardiovascular estimado a través de la Guía en la Evaluación de Riesgo Cardiovascular ACC/AHA 2013, en los pacientes con DT2 e HTA, en comparación con el grupo de pacientes con DT2 sin HTA?

## Justificación

La enfermedad cardiovascular y la DT2 son las principales causas de mortalidad en México. Se ha identificado que los cambios del estilo de vida en los cuales están involucrados la obesidad, el sedentarismo y otros factores ambientales han aumentado la incidencia de esta enfermedad, incluso a edades más tempranas.

De la proporción de pacientes con DT2 que conocen su condición, la mayoría se encuentran metabólicamente mal controlados. En el primer trimestre del 2013, se registraron 5020 ingresos hospitalarios de pacientes con DT2 en unidades médicas de segundo nivel de la Secretaría de Salud. La primera causa de ingreso fue atribuida a descompensación de la DT2. El incremento de ocupación hospitalaria se presentó a partir de los 45 años de edad y el grupo con mayor ocupación fue de los 65 años o más. De estos, 282 pacientes ingresaron por complicaciones macrovasculares (126 por cardiopatía isquémica y 156 por enfermedad vascular cerebral).

De las complicaciones graves más frecuentemente reportadas en los pacientes con DT2 según ENSANUT 2012 se encuentran: 182 mil infartos, 128 mil amputaciones y 89 mil casos de diálisis. Esto representa una verdadera emergencia de salud pública nacional, que pone en riesgo la viabilidad del sistema de salud debido al importante gasto de recursos que requieren estos pacientes para su atención. Para el año 2012, el costo estimado en México de la atención de la diabetes fue de 3872 millones de dólares, lo que representa un incremento del 13% a la cifra estimada para el 2011. Para contextualizarlo, este capital sobrepasa el presupuesto asignado al seguro popular en 2010.

Los pacientes con DT2 tienen 2 a 4 veces más riesgo de mortalidad por enfermedad arterial coronaria. Cuando se establece la aterosclerosis coronaria, el riesgo aumenta de 4 a 7 veces; contribuyendo con un 70% en la mortalidad de dichos pacientes. Se precisa que a los 10 años de evolución de ser diabético, el 40% tendrá un evento coronario y su expectativa de vida se reduce hasta 10 años en el rango de edad de los 40 a 70 años.

Conocer el comportamiento de las moléculas de adhesión endotelial en pacientes con DT2 y DT2 con HTA puede contribuir en la evaluación del riesgo cardiovascular en estos pacientes; las cuales juegan un papel importante en el desarrollo de aterosclerosis.

## Hipótesis

1. Las concentraciones séricas de moléculas de adhesión (sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina) son mayores en pacientes con DT2 con más de 10 años de evolución e HTA, en comparación a los pacientes con DT2 sin HTA.
2. El IMTc combinado es mayor en los pacientes con DT2 con más de 10 años de evolución e HTA, en comparación a los pacientes con DT2 sin HTA.
3. El riesgo cardiovascular estimado a través de la Guía de Evaluación de Riesgo Cardiovascular ACC/AHA 2013 será mayor en pacientes con DT2 con más de 10 años de evolución e HTA, en comparación a los pacientes con DT2 sin HTA.

## Objetivos

### Generales:

- Determinar los niveles séricos de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina) en los pacientes con DT2 con HTA y los pacientes con DT2 sin HTA y compararlos.
- Evaluar el IMTc combinado en los pacientes con DT2 con HTA y DT2 sin HTA y compararlos.
- Identificar el riesgo cardiovascular a través de la Guía en la Evaluación de Riesgo Cardiovascular ACC/AHA 2013 en los pacientes con DT2 con HTA y los pacientes con DT2 sin HTA y compararlos.

### Específicos:

- Comparar el control metabólico con glucosa sérica y hemoglobina glucosilada entre los pacientes con DT2 con HTA y los pacientes con DT2 sin HTA.
- Comparar las concentraciones séricas de colesterol total, colesterol –HDL y –LDL, y triglicéridos en pacientes con DT2 con HTA y los pacientes con DT2 sin HTA.
- Determinar la presencia de obesidad a través del IMC en pacientes con DT2 con HTA y en los pacientes con DT2 sin HTA y compararlos.

## Materiales y Métodos

### Diseño del estudio

**Diseño:** transversal analítico.

**Por la intervención del investigador:** observacional.

**Por el tipo de recolección de información:** prolectivo.

**Por el número de mediciones:** transversal.

**Periodo de estudio:** Febrero–Mayo 2014.

#### **Población de estudio:**

- Universo de estudio: pacientes del servicio de consulta externa de las Unidades de Medicina Familiar número 15, 23 y 31 de la ciudad de México del IMSS.

### Criterios de selección

#### **Criterios de inclusión:**

1. Pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 de más de 10 años de evolución que hayan cumplido los criterios de la Asociación Americana de Diabetes.
  - Glucosa en ayuno igual o mayor a 126 mg/dL (7.0 mmol/L)
  - Glucosa aleatoria > 200 mg/dL (11.1 mmol/L) en pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis de hiperglucemia.
  - Glucosa > 200 mg/dL 2 horas después de una carga vía oral con 75 gramos de glucosa anhidra disuelta en agua.
2. Pacientes con diabetes tipo 2 con más de 10 años de evolución que tengan el diagnóstico de hipertensión arterial sistémica por la JNC8.
3. Edad comprendida entre 40 a 70 años.
4. Derechohabiente del IMSS con vigencia al momento del ingreso al protocolo.

#### **Criterios de no inclusión:**

1. Derechohabientes con vigencia transitoria o estacional.
2. Pacientes con enfermedades autoinmunes, infecciosas, hepáticas, renales o neoplasias.
3. Pacientes con antecedentes de enfermedad cardiovascular.
4. Aquellos que no acepten firmar la hoja de consentimiento informado.
5. Otras enfermedades que puedan reducir la sobrevida o que puedan confundir la ocurrencia de eventos (enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes, enfermedades hepáticas, neoplasias malignas, cardiopatías, etc.).

#### **Criterios de exclusión.**

1. Durante el estudio no concluyan alguna parte de las mediciones.
2. Que se les detecte durante el estudio algún proceso infeccioso, autoinmune o neoplásico o alguna otra patología que modifique las moléculas de adhesión.

## Tamaño de la muestra

La muestra fue calculada por un muestreo no probabilístico de casos y controles,<sup>61</sup> donde los “controles” son pacientes que cursan con DT2 con más de 10 años de evolución sin HTA y los “casos” aquellos que cursan con DT2 con más de 10 años de evolución con HTA. Esta muestra se obtuvo de acuerdo a las prevalencias reportadas por la ENSANUT 2012, donde la prevalencia de HTA en personas con DM es de 65.6% y en la población general es de 31.5%. Para calcular el tamaño de muestra se utilizaron los siguientes parámetros:

$P_1=0.65$  (proporción de la exposición en los casos)

$P_2=0.31$  (proporción de la exposición entre los controles)

$\alpha=0.05$  (Nivel de seguridad o confianza = 95%)

$\beta=0.4$  (Poder estadístico =  $1 - \beta = 60\%$ )

Para un nivel de seguridad  $\alpha=95\%$  y un poder estadístico  $\beta=60\%$ , tenemos que:

$$Z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1.96, Z_{1-\beta} = 0.25, p = \frac{p_1 + p_2}{2} = 0.480$$
$$n = \frac{\left[ Z_{1-\frac{\alpha}{2}} \sqrt{2p(1-p)} + Z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$
$$n = \frac{\left[ 1.96 \sqrt{2(0.480)(1-0.480)} + 0.25 \sqrt{0.65(1-0.65) + 0.31(1-0.31)} \right]^2}{(0.65 - 0.31)^2}$$
$$n = \frac{\left[ 1.96 \sqrt{0.4992} + 0.25 \sqrt{0.4414} \right]^2}{(0.65 - 0.31)^2}$$
$$n = \frac{[1.5509149563]^2}{(0.34)^2}$$
$$n = 20.8074 = 21$$

Total de ambos grupos  $21 + 21 = 42$

Los escenarios probables de acuerdo al cálculo fueron:

- Asumiendo que por cada caso tuviéramos un control y un poder del 90% y un  $\alpha$  del 0.05% tendríamos que tener una  $n=43$  individuos para cada grupo.
- Asumiendo que por cada caso que tuviéramos un control y un poder del 80% y un  $\alpha$  del 0.05% tendríamos que tener una  $n=33$  individuos para cada grupo.
- Asumiendo que por cada caso que tuviéramos un control y un poder del 60% y un  $\alpha$  del 0.05% tendríamos que tener una  $n=21$  individuos para cada grupo.

La  $n$  elegida para el estudio fue  $n=21$  para cada grupo, con un nivel de seguridad del 95% y con una potencia estadística del 60%.

## Definición y operacionalización de las variables

La variable independiente es DT2 e HTA. Las variables dependientes son grosor de la íntima media de la arteria carótida, moléculas de adhesión endotelial (ICAM-1, VCAM-1, E-selectina) y riesgo cardiovascular. Las variables confusoras son: glucosa, hemoglobina glucosilada, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteínas de alta densidad, triglicéridos y obesidad.

### VARIABLES INDEPENDIENTES

#### Diabetes tipo 2

- **Definición conceptual:** grupo de enfermedades metabólicas caracterizada por hiperglucemia resultante del defecto en la secreción y/o acción de la insulina.
- **Definición operacional:** se seleccionará a los pacientes con diagnóstico de DT2 con 10 años de evolución o más de acuerdo a los criterios siguientes establecidos por la ADA: 1) glucosa en ayuno  $\geq 126$  mg/dL (7.0 mmol/L); 2) glucosa aleatoria  $> 200$  mg/dL (11.1 mmol/L). 3) glucosa  $> 200$  mg/dL 2 horas después de una carga vía oral con 75 gramos de glucosa anhidra.
- **Unidad de medición:** sí/no.
- **Escala de medición:** cualitativa nominal.

#### Hipertensión Arterial

- **Definición conceptual:** la tensión arterial se define como la energía desarrollada por la contracción de las arterias, que es proporcional al flujo sanguíneo. Esta tensión varía continuamente, pero de manera periódica, forma un ciclo que se repite y en el que se manifiesta unos mismos valores máximos y mínimos, de orden constante para cada individuo. El incremento sostenido de la presión arterial sistólica (PAs) mayor a 139 mmHg y/o presión arterial diastólica (PAd) mayor a 89 mmHg se considera hipertensión arterial. Se clasifica en estadio 1 si la PAs está entre 140 a 159 mmHg y PAd entre 90-99 mmHg. En estadio 2 con una PAs  $\geq 160$  mmHg y la PAd  $\geq 100$  mmHg.
- **Definición operacional:** Es la presión ejercida por la sangre sobre las paredes de las arterias. Se obtendrá la información del diagnóstico de HTA de la historia clínica y del interrogatorio con la toma de medicamentos para el control de la HTA. A su vez se verificará con la toma de presión arterial por los médicos investigadores después de 5 minutos en reposo en una habitación sin ruido y en posición sentado en el brazo izquierdo. El baumanómetro que se utilizará es de mercurio y para fines del estudio, se considera hipertensión arterial, si las cifras de tensión arterial se encuentran por encima de 140/90 mm Hg como lo establece el JNC8 para pacientes con DT2.
- **Unidad de medición:** Nominal dicotómica si/no.
- **Escala de medición:** cualitativa nominal.

## VARIABLES DEPENDIENTES

### Grosor intima media de la arteria carótida (IMTc)

- **Definición conceptual:** es la distancia promedio medida entre la capa íntima y media de 4 segmentos de la carótida (pared posterior, anterior a 1 cm de la bifurcación carotídea, bulbo y pared posterior de la carótida interna) a través de ultrasonografía no invasiva de alta resolución, que refleja el grado de aterosclerosis sistémica; tiene una correlación positiva con factores de riesgo cardiovascular y es un marcador predictivo independiente de cardiopatía isquémica y evento cerebro vascular.
- **Definición operacional:** se utilizará un equipo de ultrasonido Philips, IE-33 de alta resolución con software específico para estudios vasculares de tipo carotídeo con transductor lineal de banda ancha de 7-12 MHz con imágenes en Modo M y B (tiempo real), Doppler color y Doppler Duplex espectral. Se llevará a cabo por el mismo observador. La exploración será bilateral de acuerdo a las proyecciones antero-posteriores con el paciente en decúbito supino y con el cuello en extensión. Todos los estudios se realizarán siguiendo el protocolo predefinido y estandarizado para las arterias carótidas derecha e izquierda, iniciando con vistas transversales y posteriormente se utilizarán imágenes de la pared posterior, anterior de las carótidas comunes distales, bulbo y segmento proximal de la carótida interna. La medición se realizará en el centímetro antes del bulbo en ambas paredes anterior y posterior, a nivel del bulbo en el sitio con mayor incremento en el IMTc y en el segmento proximal de la pared posterior de la carótida interna derecha e izquierda. A todas las exploraciones se les tomará fotografía y se almacenarán digitalmente en disco DVR-R del ultrasonido para su análisis cuantitativo posterior. Se identificará la presencia de placas de ateroma. Se obtendrá el promedio de las 4 mediciones del IMTc medio derecho e izquierdo y se obtendrá un promedio final.
- **Unidad de medición:** milímetros (mm).
- **Escala de medición:** cuantitativa continua.

### Moléculas de adhesión endotelial

#### a) ICAM-1

- **Definición conceptual:** glicoproteína transmembrana que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, que sirve de receptor de las integrinas LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) y fibrinógeno. Es crucial en la fase de firme adhesión de los leucocitos al endotelio en el sitio de inflamación. Su forma soluble (sICAM-1) se produce por clivaje proteolítico de la membrana celular o directamente por las células y es uno de los principales biomarcadores de disfunción endotelial.
- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer®, en ayuno estricto de 12 horas. Se utilizarán dos tubos tapa roja BD Vacutainer® Serum y se centrifugarán a 3500 rpm

durante 5 minutos. El suero se alícuota en dos tubos eppendorf de 1.5 cm para conservarse a -70°C. Se medirá la concentración de sICAM-1 por ensayo inmunoenzimático.

- **Unidad de medición:** nanogramos por mililitro (ng/mL).
- **Escala de medición:** cuantitativa.

#### b) VCAM-1

- **Definición conceptual:** glicoproteína transmembrana que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Es receptor para la integrina VLA-4, e interactúa con la proteína secretada ácida y rica en cisteínas (SPARC), una molécula que induce la modificación del citoesqueleto para la trans migración celular. Su forma soluble (sVCAM-1) se produce por clivaje proteolítico de la membrana celular y es uno de los principales biomarcadores de disfunción endotelial.

- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer®, en ayuno estricto de 12 horas. Se utilizarán dos tubos tapa roja BD Vacutainer® Serum y se centrifugaran a 3500 rpm durante 5 minutos. El suero se alícuota en dos tubos eppendorf de 1.5 cm para conservarse a -70°C. Se medirá la concentración de sVCAM-1 por ensayo inmunoenzimático.

- **Unidad de medición:** nanogramos por mililitro (ng/mL).
- **Escala de medición:** cuantitativa.

#### c) E-selectina:

- **Definición conceptual:** glicoproteína que se expresa *de novo* en la superficie de la célula endotelial, la cual regula el primer contacto y rodamiento de los leucocitos sobre el endotelio. Se unen a ligandos de carbohidratos fucosilados y sialisados. Su principal ligando es la glicoproteína P-selectina ligando-1 (PSGL-1) que se encuentra en las microvellosidades de los leucocitos. La isoforma soluble (sE-selectina) se debe a su clivaje proteolítico de la porción extracelular.

- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema Vacutainer®, en ayuno estricto de 12 horas. Se utilizaran dos tubos tapa roja BD Vacutainer® Serum y se centrifugaran a 3500 rpm durante 5 minutos. El suero se alícuota en dos tubos eppendorf de 1.5 cm para conservarse a -70°C. Se medirá la concentración de sE-selectina por ensayo inmunoenzimático.

- **Unidad de medición:** nanogramos por mililitro (ng/mL).
- **Escala de medición:** cuantitativa.

### Riesgo cardiovascular:

· **Definición conceptual:** la guía de evaluación de riesgo cardiovascular American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) 2013,<sup>62</sup> lo define como la probabilidad estimada dentro de un periodo de 10 años a partir de la evaluación, de sufrir un evento de enfermedad aterosclerótica cardiovascular no mortal, en sujetos entre los 40 y 79 años de edad que aún no han presentado un evento cardiovascular. La estimación del riesgo se basa en un conjunto de ecuaciones de cohortes desarrolladas a partir de modelos de riesgo proporcionales específicos para sexo y raza; que incluyen las covariables de edad, nivel de presión arterial sistólica tratada o no tratada, niveles de colesterol total y lipoproteínas de alta densidad, estado de tabaquismo (Si/No) y antecedente de diabetes (Si/No). El punto de corte establecido para estratificar a un sujeto con riesgo cardiovascular bajo es <7.5%, y en riesgo cardiovascular alto ≥7.5%. Se recomienda evaluar el riesgo cardiovascular a todos los sujetos con 40 años de edad. La evaluación debe repetirse cada 4 a 6 años en sujetos que obtengan un riesgo bajo (< 7.5%). Los sujetos con riesgo alto (≥ 7.5%), deben intervenir con medidas de prevención establecidas en las guías de prevención de colesterol y obesidad ACC/AHA.

· **Definición operacional:** para evaluar el riesgo cardiovascular a 10 años en los participantes del estudio, se realizará una serie de pasos. Se calcula el valor del logaritmo natural de la edad, colesterol total, HDL-c y presión arterial sistólica tratada y no tratada. Las interacciones entre la edad y los lípidos y la presión arterial sistólica, utilizan el logaritmo natural para cada variable (ej.  $\text{Ln}[\text{Edad}] \times \text{Ln}[\text{Colesterol Total}]$ ). Estos valores son multiplicados posteriormente por el coeficiente de cada ecuación para el grupo específico de sexo y raza de cada sujeto. La suma de los valores resultantes del producto del “[Coeficiente]x[Valor]” es calculada para cada sujeto; obteniendo una “suma individual” para cada grupo de sexo y raza. El riesgo estimado de presentarse un primer evento severo de enfermedad aterosclerótica cardiovascular a 10 años, es entonces calculado como 1 menos la tasa de supervivencia a 10 años, elevado a la potencia del exponente resultante de la diferencia de la suma del “[Coeficiente]x[Valor]” menos la media de la suma del “[Coeficiente]x[Valor]” específico para sexo y raza; o en la forma de la ecuación:

Estimación de riesgo individual en 10 años de presentar un evento severo de enfermedad aterosclerótica cardiovascular (10-year Risk for Incident Hard ASCVD)

$$10\text{-year Risk for Incident Hard ASCVD} = 1 - S_{10}^{e^{(IndX'B - MeanX'B)}}$$

Donde  $S_{10}$  es la tasa de supervivencia a 10 años para cada grupo de sexo y raza,  $IndX'B$  es la suma del [Coeficiente]x[Valor] y  $MeanX'B$  es la media de la suma del [Coeficiente]x[Valor] específico para sexo y raza.

- **Unidad de medición:** porcentaje de evento cardiovascular a 10 años
- **Escala de medición:** para fines descriptivos: cuantitativa, para análisis cualitativa dicotómica.

## VARIABLES CONFUSORAS

### Glucosa

- **Definición conceptual:** monosacárido hexosa por estar compuesto de seis átomos de carbono. Es un sustrato para el metabolismo energético en la mayoría de los tejidos. Su metabolismo es un proceso complejo con cambios continuos a lo largo del día. Las concentraciones en plasma o suero son 10 a 15% mayores porque no están presentes los componentes estructurales hemáticos, de tal forma que hay más glucosa por unidad de volumen, por lo que los límites normales de glucosa plasmática o sérica de ayuno son de 70 a 110 mg/dL.
- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer® al inicio del estudio con ayuno estricto de 12 horas y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. La muestra para glucosa se recolectará en un tubo tapa roja BD Vacutainer® Serum. Se medirá por análisis de punto final con metodología Trinder glucosa oxidasa/peroxidasa, utilizando la plataforma ILab 300 Plus.
- **Unidad de medición:** mg/dL
- **Valor normal:** < 110 mg/dL
- **Escala de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines de análisis es cualitativa dicotómica.

### Hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1c</sub>)

- **Definición conceptual:** porcentaje de glucosilación de hemoglobina. La Hemoglobina A (HbA) constituye el 90% de la hemoglobina del adulto y tiene 3 subunidades, A1a, A1b, A1c, de estas la más estable, que tiene una unión con la glucosa más específica es la fracción HbA<sub>1c</sub> donde se desarrolla una glucosilación irreversible no enzimática de la valina N-terminal de la cadena beta de la Hemoglobina. Este fenómeno ocurre en el eritrocito y depende de la concentración de glucosa con una duración de 120 días que es la vida media del eritrocito.
- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer® al inicio del estudio en ayuno estricto de 12 horas y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. La muestra para HbA<sub>1c</sub> se recolectará en un tubo BD Vacutainer® K2 EDTA 10.5 mg. Con la prueba Quantex HbA<sub>1c</sub> se mide la concentración total de hemoglobina en una muestra hemolizada pretratada; donde el método involucra la conversión de todos los derivados de hemoglobina en hematina, la cual permite la medición de punto final de la hemoglobina total. El cálculo de la HbA<sub>1c</sub>, es por un ensayo de inhibición por aglutinación de látex, donde la HbA<sub>1c</sub> presente en la muestra reacciona con los anticuerpos anti-HbA<sub>1c</sub> acoplados al latex, pero como sólo existe un sitio de unión específico no ocurre la aglutinación. Posteriormente se agrega el aglutinador, un polímero sintético con múltiples copias de la unión inmunoreactiva de la HbA<sub>1c</sub> que se une a las porciones libres del látex. En ausencia de HbA<sub>1c</sub> la aglutinación da como resultado un incremento en la absorbancia, la cual se mide por turbidimetría. Si la muestra

contiene HbA<sub>1c</sub> reacciona con los anticuerpos acoplados al látex y el polímero sintético aglutinador reacciona con los sitios libres de unión de los anticuerpos acoplados al látex y la absorbancia final disminuye proporcionalmente a la concentración de HbA<sub>1c</sub>. La concentración entonces, es calculada con la siguiente ecuación:  $\text{mmol/mol HbA}_{1c} \text{ (IFCC)} = \text{HbA}_{1c} \text{ (mmol/l)} / \text{Total Hb (mmol/l)} \times 1000$ . Los resultados se convierten a unidades NGSP (%) utilizando la ecuación:  $\text{NGSP (\%)} = 0.09148 \text{ IFCC (mmol/mol)} + 2.152^5$ . Se utilizó la plataforma ILab 300 Plus.

- **Unidad de medición:** porcentaje.
- **Valor normal:** 4.5 a 6.2 %
- **Escala de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines de análisis es cualitativa dicotómica.

### **Colesterol total**

- **Definición conceptual:** es una grasa o lipóide esencial para nuestro organismo y es indispensable para formar las membranas de las células, los ácidos biliares y hormonas de la corteza suprarrenal y de las glándulas sexuales. La hipercolesterolemia condiciona un estado de aterosclerosis.
- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer® al inicio del estudio con ayuno estricto de 12 horas y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. La muestra se recolectará en un tubo tapa roja BD Vacutainer® Serum. Se medirá por análisis de punto final basado en una modificación por el método de Allain et al, utilizando la plataforma ILab 300 Plus.
- **Unidad de medición:** miligramos por decilitro (mg/dL).
- **Valor normal:** < 200 mg/dL.
- **Escala de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines de análisis es cualitativa dicotómica.

### **Colesterol de baja densidad (LDL-c)**

- **Definición conceptual:** son lipoproteínas de mayor tamaño, con un diámetro de 180 a 300 Angstroms. Tienen una densidad 1.019-1.063 kg/L. Al estar oxidadas actúan inhibiendo el transporte de la arginina desde el plasma sanguíneo al endotelio vascular disminuyendo la síntesis de óxido nítrico. Se producen por degradación de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y son las que más contribuyen a la disfunción endotelial y formación de placas de aterosclerosis.
- **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer®, en ayuno estricto de 12 horas y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. La muestra se recolectará en un tubo tapa roja BD Vacutainer® Serum. Se medirá por análisis de punto final basado en actividad enzimática; utilizando la plataforma ILab 300 Plus.
- **Unidad de medición:** miligramos por decilitro (mg/dL).
- **Valor normal:** < 100 mg/dL.

· **Escala de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines de análisis cualitativo dicotómico.

### **Colesterol de alta densidad (HDL-c)**

· **Definición conceptual:** es una pequeña partícula que consiste principalmente de proteínas (18-22%) ApoA-I, ApoA-II y E; colesterol (3-5%); ésteres de colesterol (15-20%); triglicéridos (2-7%) y fosfolípidos (26-32%). Tiene movilidad electroforética  $\alpha$ , un diámetro de 50 a 120 Amstrongs y una densidad de 1.063-1.125 kg/L para HDL<sub>2</sub> y 1.045-1.080 kg/L para HDL<sub>3</sub>. Está involucrada en el transporte inverso del colesterol. Estudios *in vitro* sugieren que está implicada en mecanismos anti-inflamatorios, anti-oxidantes, anti-trombóticos y de inducción del óxido nítrico.

· **Definición operacional:** se realizará flebotomía con sistema BD Vacutainer®, en ayuno estricto de 12 horas; y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. Se utilizará un tubo rojo BD Vacutainer® Serum. Se medirá por análisis de punto final por inhibición de antígeno-anticuerpo y actividad enzimática; utilizando la plataforma ILab 300 Plus.

· **Unidad de medición:** miligramos por decilitro (mg/dL)

· **Valor normal:** el recomendado para hombre es > 40 mg/dL, y para mujer > 50 mg/dL.

· **Escalada de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines del análisis es cualitativa dicotómica.

### **Triglicéridos**

· **Definición conceptual:** compuestos de tres ácidos grasos y un glicerol. Son los principales lípidos que transportan grasa neutra y se depositan en el tejido adiposo y muscular para su uso o almacenamiento. La hipertrigliceridemia conforma el modelo de dislipidemia del diabético tipo 2.

· **Definición operacional:** se realizará la flebotomía con sistema BD Vacutainer® al inicio del estudio con ayuno estricto de 12 horas y se procesará la muestra en el laboratorio de la Unidad de Investigación el mismo día. La muestra para triglicéridos se recolectó en un tubo rojo BD Vacutainer® Serum. Se medirá por análisis de punto final por actividad enzimática; utilizando la plataforma ILab 300 Plus.

· **Unidad de medición:** miligramos por decilitro (mg/dL).

· **Valor normal:** < 150 mg/dL.

· **Escala de medición:** con fines descriptivos es cuantitativa y para fines de análisis, cualitativa dicotómica.

### **Obesidad**

· **Definición conceptual:** el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilogramos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m<sup>2</sup>).

- **Definición operacional:** se calculará el IMC de cada paciente a partir de las medidas antropométricas obtenidas y se clasificará según los criterios de la OMS como sigue: un IMC igual o superior a 25 y menor que 30 determina sobrepeso. Un IMC igual o superior a 30 y menor que 35 determina obesidad tipo I; un IMC igual o superior a 35 y menor que 40 determina obesidad tipo II; un IMC superior a 40 determina obesidad tipo III.
- **Unidad de medición:** kilogramos sobre metro cuadrado.
- **Escala de medición:** cualitativa ordinal.

## VARIABLES DEMOGRÁFICAS

### Edad

- **Definición conceptual:** tiempo transcurrido en años, meses, días desde el registro de nacimiento hasta el momento de referencia.
- **Definición operacional:** tiempo transcurrido desde el nacimiento, expresado en años, obtenido por interrogatorio directo al paciente.
- **Unidad de medición:** años.
- **Tipo de variable:** cuantitativa.

### Sexo

- **Definición conceptual:** se refiere a las características biológicas que definen a los seres humanos como hombre o mujer.
- **Definición operacional:** de acuerdo a las características fenotípicas del paciente, se clasificará como hombre o mujer.
- **Unidad de medición:** masculino o femenino.
- **Escala de medición:** dicotómica.

## **Análisis estadístico**

Se utilizó el software MS Office® Excel® 2013 para capturar la información de la hoja de recolección de datos, estudios de laboratorio y del ultrasonido doppler carotídeo. También se calcularon medidas antropométricas como índice de masa corporal, índice cintura/cadera. Se calculó la tasa de filtración glomerular con la ecuación de Cockcroft-Gault, la estimación del riesgo cardiovascular de acuerdo al modelo estadístico ACC/AHA 2013 y el grosor íntima-media de la arteria carótica combinado.

El análisis estadístico se llevó a cabo con el Software IBM® SPSS® v22. Se calcularon estadísticos descriptivos. Para el análisis bivariado, se utilizó la prueba de Mann-Whitney no paramétrica para dos muestras independientes. Se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar las correlaciones entre variables y para el análisis de multivariado se empleó regresión logística.

## Descripción general del estudio

**Evaluación clínica:** una vez identificados a todos los pacientes, se les citó entre las 7 y 8 de la mañana para la aplicación de varios cuestionarios sobre la presencia de factores de riesgo asociados a su diabetes, su estilo de vida (alimentación y actividad física) y nivel de educación escolar.

A todos los participantes se les descartó la presencia de infección aguda en el interrogatorio y se examinaron clínicamente a cada paciente buscando intencionadamente la presencia de fiebre con toma de temperatura axilar, la presencia de infección respiratoria o abdominal. Además, se les realizó una historia clínica completa, que incluyó edad, peso, talla, tensión arterial, los cuales registramos en la hoja de recolección de datos (Anexo 2).

La determinación de la presión arterial se realizó con un esfigmomanómetro de mercurio. Con el mínimo de ropa se pesó al paciente en una báscula Tanita, ajustando la medición al medio kilogramo más cercano. La talla se obtuvo en un estadímetro, aproximando la medición al centímetro más cercano. Como medida de obesidad se estimará el índice de masa corporal, al dividir el peso en kilogramos sobre la talla en metros elevada al cuadrado. Se midió la circunferencia de cintura en el momento del vacío entre el final de la espiración y el comienzo de la inspiración de una respiración normal, en el punto medio entre la cresta iliaca y la primera costilla. También se midió la circunferencia de cadera como aquella de mayor magnitud entre la cadera y rodilla. Estas mediciones se realizaron con una cinta métrica flexible Mass®, y se estimará el índice cintura-cadera, como la razón entre ambas circunferencias.

**Métodos para la determinación de moléculas de adhesión:** después de 12 horas de ayuno, para la determinación de moléculas de adhesión, se obtuvo una muestra sanguínea de 14 mL de una vena periférica en cada uno de los participantes (se utilizaron 2 un tubo BD Vacutainer® Serum). La muestra se dejó coagular y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos dentro de la primera media hora después de su obtención. Del suero, se separaron alícuotas para la medición del ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina, las cuales se congelaron a -70° C hasta su determinación. Los estándares y todas las muestras se determinaron por duplicado. Los resultados se reportaron como el promedio de los duplicados.

La cuantificación se realizó con la técnica de ELISA, utilizando un inmunoensayo enzimático tipo sandwich con un anticuerpo monoclonal doble (EIA), utilizando un kit DuoSet ELISA human ICAM-1/CD54 y DuoSet ELISA human E-Selectin/CD62E, con microplacas, buffers, diluyentes, sustratos y diluciones recomendados en el inserto para placas de 96 pozos. La lectura de los resultados será por espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan FC.

**Estudios bioquímicos:** posterior a 12 horas de ayuno, para la determinación de parámetros bioquímicos, se obtuvo una muestra sanguínea de 7 mL de una vena periférica en cada uno de los participantes. La muestra se dejó coagular y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos dentro de

la primera media hora después de obtener la muestra. Después, se realizaron las determinaciones de glucosa, urea, creatinina, colesterol total, HDL-c, LDL-c y triglicéridos. Para determinar los valores de HbA<sub>1c</sub> en sangre total, se empleó un tubo BD Vacutainer® K2 EDTA 10.5 mg. Se determinó la presencia de albúmina en orina por ensayo inmunoenzimático. La determinación de los analitos antes mencionados se llevó a cabo acorde a las instrucciones y material especificados por el proveedor de cada prueba en la plataforma analítica ILab 300 Plus (Anexo 3).

**Métodos para la determinación del ultrasonido carotideo** se utilizó un equipo de ultrasonido Philips, IE-33 de alta resolución con software específico para estudios vasculares de tipo carotideo con transductor lineal de banda ancha de 7-12 MHz con imágenes en modo –B (tiempo real), Doppler color y Doppler dúplex espectral. Siempre se llevó a cabo por el mismo observador. La exploración extracraneal de las arterias carótidas comunes se realizó bilateralmente de acuerdo a las proyecciones antero-posteriores con el paciente en decúbito supino y con el cuello en extensión. Todos los estudios se realizaron siguiendo un protocolo predeterminado y estandarizado para las arterias carótidas derecha e izquierda, iniciando con vistas transversales y posteriormente se utilizaron imágenes de la pared posterior y anterior de las arterias carótidas comunes distales, en el bulbo y en el primer centímetro de la carótida interna derecha e izquierda. . La medición se realizó en el centímetro antes del bulbo en ambas paredes anterior y posterior, a nivel del bulbo en el sitio con mayor incremento en el IMTc y en el segmento proximal de la pared posterior de la carótida interna derecha e izquierda. A todas las exploraciones se les tomo fotografía y se almacenaron digitalmente en disco DVR-R del ultrasonido, para su análisis cuantitativo posterior. Se identificó la presencia de placas de ateroma. Se obtuvo el promedio de las 4 mediciones del IMTc medio derecho, izquierdo y se obtuvo un promedio final, el cual se consideró para el análisis. (Anexo 4)

## **Aspectos éticos**

El presente protocolo de estudio se apega a los lineamientos de la Declaración de Helsinki y a los de la Ley General de Salud vigente, acerca de investigación en seres humanos.

**Riesgo de la investigación.** De acuerdo con lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y conforme a los Aspectos Éticos de la Investigación en seres humanos, Título II, Capítulo I, artículo 17; el estudio se consideró de riesgo mayor que el mínimo por la realización del Ultrasonido Vascular.

**Posibles beneficios.** El participante recibió como beneficio directo el reporte del ultrasonido vascular para su médico familiar con el objetivo de mejorar la corrección de sus factores de riesgo. De presentar enfermedad carotídea o vascular periférica importante se canalizó al paciente al servicio de Angiología para su manejo por el especialista. En el caso del beneficio a la sociedad, se espera que los resultados contribuyan a aumentar el conocimiento de la utilidad de estudios clínicos no invasivos sugeridos para el diagnóstico temprano de aterosclerosis en pacientes con riesgo cardiovascular. Y el generar pautas sobre el manejo de los distintos factores de riesgo potencialmente modificables.

**Posibles inconvenientes.** El principal inconveniente para el paciente que aceptó participar fue la punción para la toma de la muestra de sangre. Así como la realización del ultrasonido vascular en relación a la temperatura del gel sobre la piel. Otro posible inconveniente fue el desplazamiento de su lugar de origen a la UMAE del Hospital de Especialidades por el gasto económico que representó.

**Confidencialidad.** Todos los datos obtenidos durante el estudio se han mantenido como confidenciales. Sólo el personal autorizado de los servicios de Cardiología y de la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica y Bioquímica de la UMAE Hospital de Especialidades tuvo acceso a los mismos para la captura y procesamiento de la información. Los datos obtenidos se han utilizado sin indicar el nombre de los pacientes (se utilizó un número de folio en cada caso) o cualquier otro dato que permitiera identificarlo.

**Consentimiento Informado.** Respecto del proyecto se informó a los pacientes: el propósito, los procedimientos, los posibles riesgos, benéficos, molestias y resultados. La posibilidad del retiro, la confidencialidad de los datos, el personal de contacto para dudas y aclaraciones respecto al estudio y respecto a sus derechos como participantes. Una vez entendida la información, se solicitó al paciente su consentimiento informado para participar en el estudio. Se explicó que su atención en el Instituto no será diferente de ninguna manera en caso de rechazar participar en el estudio. (Anexo 5)

**Condiciones en la que se solicita el consentimiento.** El consentimiento informado se solicitó en la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica de la UMAE Hospital de Especialidades, siempre por parte del médico, una vez que fue presentado el protocolo al paciente. El contenido de la carta de consentimiento se estructuró acorde a las disposiciones de la Declaración de Helsinki y la Secretaría de Salud en materia de investigación en humanos conforme al artículo 13 a 27 del capítulo I y a la Guía para la Carta de Consentimiento Informado de la Comisión Nacional de Investigación Científica de la Coordinación de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social.

A los pacientes se les invitará a participar de manera voluntaria, con el beneficio personal de realizarles evaluación integral tanto clínica como de laboratorio. En caso de detectarse alguna patología por el médico responsable de la evaluación, se le proporcionará al participante una nota para que acuda a su clínica para atención médica correspondiente.

A todos los participantes se les solicitará la firma de la carta de consentimiento informado como parte de los requisitos de la Comisión de Ética. Además, se les informará que los tubos de las muestras de suero, serán etiquetados con números consecutivos y se registraran en nuestra base de datos de manera confidencial. Los investigadores se comprometen al uso no lucrativo y responsable de las alícuotas de suero (no comercialización, no ruptura del anonimato) por parte de las instancias que participan dentro y fuera del IMSS.

## **Recursos humanos y materiales.**

### **Recursos humanos**

Se contó con la participación de los siguientes recursos humanos:

- Dr. Miguel Cruz López, jefe de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Dr. Adán Valladares Salgado, Investigador asociado de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Dr. Jesús Peralta Romero, Investigador asociado de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Dra. Alicia Contreras Rodríguez, médico cardiólogo ecocardiografista adscrito al Servicio de Gabinetes, Hospital de Cardiología, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Personal de Laboratorio de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### **Recursos materiales**

- Se requirió material de oficina, instrumentos de exploración física, equipos de cómputo, software, material de laboratorio, reactivos de pruebas bioquímicas y de moléculas de adhesión endotelial, instrumentos analíticos de laboratorio (Thermo Scientific Multiskan FC e ILab 300 Plus) y equipo de ultrasonido vascular (Philips IE-33).

## Resultados

Se estudiaron a 50 pacientes 17 hombres y 33 mujeres con una edad promedio de 59 (54.75 a 65) años con tiempo de evolución de la diabetes de 12 (10 a 16) años.

Se conformaron dos grupos: 21 pacientes en el grupo I con DT2 sin HTA con un tiempo de evolución promedio de 10 años (10 a 12), 9 hombres (42.9%) y 12 mujeres (57.1%); grupo II con DT2 e HTA con tiempo de evolución de 14 años (11.5 a 17.5), 8 hombres (27.6%) y 21 mujeres (72.4%).

Al comparar el IMC entre ambos grupos: grupo I: 29.41 (27.59 – 33.2 kg/m<sup>2</sup>) vs grupo II: 27.76 (24.6 – 30.51 kg/m<sup>2</sup>) no se alcanzó diferencia estadística. Al estratificar por sobrepeso y obesidad se observó una diferencia significativa en la variable obesidad entre el grupo I con 38.1% y el grupo II con 27.5%. El resto de los parámetros basales antropométricos de los sujetos del estudio se describen en la tabla 1.

<b>Tabla 1</b> Parámetros basales antropométricos y clínicos de la muestra inicial por grupos de estudio.			
<b>Variable</b>	<b>Grupo I Diabetes (n=21)</b>	<b>Grupo II Diabetes e HTA (n=29)</b>	<b>p</b>
<b>Edad (años)</b>	57 (52-63.5)	61 (56.5-65.5)	0.07
<b>Sexo (H/M) (%)</b>	9/12 (42.9/57.1)	8/21 (27.6/72.4)	NS
<b>Peso (kg)</b>	76 (67 – 88.75)	63.9 (58.2 – 78.3)	<b>0.028*</b>
<b>Talla (cm)</b>	1.62 (1.56 – 1.66)	1.54 (1.48 – 1.61)	<b>0.024*</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.41 (27.59 – 33.2)	27.66 (24.6 – 30.5)	0.118
<b>Índice cintura/cadera</b>	0.96 (0.90 – 1.01)	0.91 (0.84 – 0.95)	<b>0.026*</b>
<b>TAS (mm Hg)</b>	115 (110 – 120)	140 (130 – 140)	<b>&lt; 0.001*</b>
<b>TAD (mm Hg)</b>	80 (70 – 80)	90 (82.5 – 90)	<b>&lt; 0.001*</b>
<b>Uso de medicamentos: n (%)</b>			
Estatinas y Fibratos	8 (38.1)	18 (62.1)	NS
Antihipertensivos	2 (9.51)	24 (82.8)	<b>&lt; 0.001*</b>
Antiagregantes	0	0	-
<b>Antecedente de: n (%)</b>			
Tabaquismo	6 (28.6)	6 (20.7)	NS
Dislipidemia	14 (66.6)	29 (100)	
Hipercolesterolemia	9 (42.8)	17 (58.6)	
Hipertrigliceridemia	12(57.1)	15 (51.7)	
<b>Actividad Física n (%)</b>	12 (57.1)	19 (65.5)	NS
<b>Sobrepeso</b>	11 (52.4)	13 (44.8)	0.07
<b>Obesidad</b>	8 (38.1)	8 (27.5)	<b>0.05*</b>

Resultados expresados en *mediana (rango intercuartil)*; o en *n(%)* según sea el caso.  
 \*P estadísticamente significativa ≤ 0.05; NS=no significativo.  
 IMC=índice de masa corporal; TAS=tensión arterial sistólica; TAD=tensión arterial diastólica.

En las pruebas bioquímicas, la presencia de dislipidemia se vio en 14 pacientes (66.6%) en el grupo I; de los cuáles el 38.1 % se encontraban con tratamiento hipolipemiente. El perfil de lípidos en estos pacientes mostró elevación de colesterol total en 9 pacientes (42.8%); con presencia de concentraciones altas de LDL-c en 18 pacientes (85.71%) e hipertrigliceridemia en 12 pacientes (57.14%). En el grupo II el diagnóstico previo de dislipidemia fue en un 100%, caracterizado por hipercolesterolemia en 17 pacientes (58.6%), incremento de LDL-c en 29 pacientes (100%) e hipertrigliceridemia en 15 pacientes (51.7%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las concentraciones de LDL-c, HDL-c y triglicéridos.

El estado metabólico se analizó a través de la concentración de glucosa sérica en ayuno mostrando un mayor descontrol metabólico en el grupo I comparado al grupo II (183 vs 156 mg/dl). Esta diferencia no alcanzó significancia estadística; y se mantiene cuando estudiamos el control en forma más permanente a través de las concentraciones de la HbA<sub>1c</sub> (8.11 vs 7.26 %). Ver Tabla 2.

<b>Tabla 2 Parámetros bioquímicos de los participantes por grupos de estudio.</b>			
<b>Variable</b>	<b>Grupo I Diabetes (n=21)</b>	<b>Grupo II Diabetes e HTA (n=29)</b>	<b>p</b>
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	183.0 (118 – 243.5)	156 (123 – 200.5)	NS
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	194 (156.5 – 220.5)	209 (174 – 239)	NS
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	169 (115.5 – 214.5)	153 (108 – 206)	NS
<b>HDL-c (mg/dL)</b>	42 (37.5 – 54.5)	51 (44.5 – 59)	NS
<b>LDL-c (mg/dL)</b>	140 (124 – 157.5)	155 (127.5 – 184.5)	NS
<b>HbA<sub>1c</sub> (%)</b>	8.11 (6.42 – 11.03)	7.26 (6.66 – 10.47)	NS
<b>TFG (ml/min/1.73m<sup>2</sup>)</b>	92.28 (79.58-124.58)	82.56 (62.18-82.56)	<b>0.04*</b>

Resultados expresados en *mediana (rango intercuartil)*; o en *n(%)* según sea el caso.  
 \*P estadísticamente significativa ≤ 0.05; NS=no significativo.  
 HDL-c=colesterol de alta densidad; LDL-c=colesterol de baja densidad; HbA<sub>1c</sub>=hemoglobina glucosilada; TFG=tasa de filtración glomerular.

En relación a las moléculas de adhesión no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes diabéticos y los diabéticos con hipertensión.

Los niveles de VCAM-1 en el grupo I fueron de 408 ng/mL en comparación al grupo II con 401.4 ng/mL. Los niveles de E-selectina en ambos grupos fueron similares (12.35 vs 12.20) ng/mL. Ambas moléculas no mostraron diferencia estadística. En el grupo I los valores ICAM-1 fueron ligeramente superiores sin alcanzar diferencia significativa (250.53 vs 217.91 ng/mL) *p*=NS. Ver tabla 3.

Cuando se comparó el riesgo cardiovascular, se encontró 10 pacientes (47.6%) del grupo I tenían riesgo cardiovascular bajo (<7.5%) vs 2 pacientes del grupo II (6.9%); con riesgo cardiovascular alto encontramos en el grupo I 11 pacientes (52.4%) vs 27 pacientes del grupo II (93.1%) y observamos

diferencia entre el grupo I y II: 7.8 (2.95 – 14.85) vs 16.7 (10 – 25.8) estadísticamente significativa ( $p<0.05$ ).

<b>Tabla 3</b> Parámetros inflamatorios y riesgo cardiovascular a 10 años de acuerdo a cada grupo.			
Variable	Grupo I	Grupo II	P
	Diabetes (n=21)	Diabetes e HTA (n=29)	
VCAM-1 (ng/mL)	408 (348.45 – 450.75)	401.40 (363.6 – 429.15)	NS
ICAM-1 (ng/mL)	250.53 (192.97 – 285.97)	217.91 (186.79 – 244.28)	NS
E-Selectina (ng/mL)	12.35 (9.07 – 18.22)	12.20 (8.27 – 15.24)	NS
<b>RCV-10 a (ACC/AHA 2013)</b>	7.8 (2.95 – 14.85)	16.7 (10 – 25.8)	<b>&lt;0.05*</b>

Resultados expresados en *mediana (rango intercuartil)*.  
 \*P estadísticamente significativa  $\leq 0.05$ ; NS=no significativo.  
 VCAM=molécula de adhesión celular vascular; ICAM=molécula de adhesión intracelular; RCV-10 a=riesgo cardiovascular a 10 años; ACC=American College of Cardiology; AHA=American Heart Association.

En el análisis bivariado de las moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina) solo se observó una correlación positiva entre los niveles de E-selectina y las concentraciones de glucosa sérica (0.287  $p<0.05$ ).

Cuando analizamos el IMTc se encontró correlación positiva con la edad (0.286;  $p=0.05$ ), PAs (0.337;  $p=0.05$ ), PAd (0.294  $p=0.05$ ) y con el riesgo cardiovascular (0.337;  $p=0.05$ ) y una correlación negativa con la tasa de filtración glomerular (-0.314;  $p=0.05$ ).

Cuando analizamos el riesgo cardiovascular se documentó una correlación positiva con la edad (0.600;  $p<0.05$ ), y con los parámetros que integran el cálculo como PAs (0.521  $p<0.05$ ), Colesterol total (0.323;  $p<0.05$ ); y además con la TAd (0.488  $p<0.01$ ); y con IMTc ya establecido.

En el análisis por subgrupos: en el grupo con DT2 e HTA se observaron las siguientes correlaciones: positivas entre el IMC y las concentraciones de ICAM-1 (0.380;  $p=0.05$ ) y las concentraciones de E-selectina (0.373  $p<0.05$ ). El IMTc correlacionó positivamente con las concentraciones de glucosa sérica (0.387;  $p<0.05$ ); y una correlación negativa entre el ICAM-1 y el índice cintura-cadera (0.446;  $p=0.05$ ).

En el grupo con DT2, sólo se observó una correlación negativa entre el incremento en el IMTc y la tasa de filtración glomerular (0.549;  $p<0.01$ ) y una correlación positiva entre el riesgo cardiovascular y las concentraciones de LDL-c (0.754;  $p<0.01$ ).

En relación al ultrasonido vascular se encontró que el grosor íntima media de la arteria carótida combinado fue en el grupo I de 0.626 (0.535-0.715) mm vs 0.760 (0.661-0.841) mm alcanzando una diferencia significativa con una  $p<0.05$ .

La presencia de placas de ateroma fue de 5 pacientes (23.8%) en el grupo I en comparación a 14 pacientes (48.3%) del grupo II con una  $p < 0.05$ . Ver tabla 4 y 5.

<b>Tabla 4</b> Parámetros de ultrasonido vascular de los participantes de acuerdo a la presencia de DT2 y DT2 con HTA.			
Variable	Grupo I		p
	Diabetes (n=21)		
IMTc combinado (mm)	0.626 (0.535 – 0.715)		0.760 (0.661 – 0.841)
Placas de ateroma n (%)	5 (23.8%)		14 (48.3%)
Resultados expresados en mediana (rango intercuartil) o en n(%) según sea el caso.			
*P estadísticamente significativa $\leq 0.05$			
IMTc=grosor íntima-media de la arteria carótida			

<b>Tabla 5</b> Frecuencia de placas de ateroma por sexo y coexistencia de hipertensión.					
HIPERTENSION			PLACAS DE ATEROMA		Total
			Sin placa de ateroma	Con placa de ateroma	
Sin Hipertensión	SEXO	Hombre	6	3	9
		Mujer	10	2	12
	Total		16	5	21
Con Hipertensión	SEXO	Hombre	4	4	8
		Mujer	11	10	21
	Total		15	14	29
Total	SEXO	Hombre	10	7	17
		Mujer	21	12	33
	Total		31	19	50

Dado que las características clínicas de nuestros pacientes son complejas, y a que la asociación entre las moléculas de adhesión, los parámetros bioquímicos, riesgo cardiovascular e IMTc puede verse influida por factores como el tipo de tratamiento, control metabólico y actividad física se realizaron regresiones logísticas para ajustar el efecto de las variables potencialmente confusoras sobre las asociaciones buscadas; encontrando solo asociación entre el IMTc y los triglicéridos con un OR de 6.28 (95% IC: 0.948 – 41.67,  $p=0.05$ ).

## Discusión

En la última encuesta del ENSANUT 2012 la prevalencia de diabetes tipo 2 fue del 9.2% (6.4 millones) de los cuales 65.6% (IC 95% 60.3 – 70.7) son hipertensos y el resto podría desarrollar la HTA en el curso clínico de la enfermedad. Ambas enfermedades son consideradas factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular.<sup>4,63</sup>

Varios estudios han tratado de evaluar el riesgo cardiovascular en estos dos grupos de pacientes al considerar que al asociarse la hipertensión arterial sistémica, el riesgo cardiovascular debe ser mayor.<sup>39,47,48,57</sup> En los pacientes diabéticos la aterosclerosis tiene una respuesta inflamatoria progresiva sobre los tejidos con un continuo depósito y modificación de lipoproteínas en la pared vascular, este proceso no solo es sistémico sino existe un proceso de inflamación baja en forma crónica la cual puede ser medida a través de la cuantificación de las moléculas de inflamación y adhesión como VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina como se hace referencia diversos estudios.<sup>64,65</sup>

Así mismo se ha documentado en diversos ensayos clínicos que los pacientes tanto adultos como niños y adolescentes que son diabéticos o hipertensos; de manera independiente presentan mayores concentraciones de moléculas de adhesión.<sup>47,66,67</sup>

Existe en la actualidad controversia en relación al riesgo cardiovascular entre los pacientes con DT2 y el grupo de diabéticos con hipertensión, Rubio y cols han demostrado en varios estudios que los pacientes donde coexisten ambas patologías presentan mayor concentración de las moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y E-selectina) en comparación al grupo con DT2. Cuando se analizan las diferencias en relación a cada molécula de adhesión solo el ICAM-1 presentó diferencia significativa. Así mismo, ICAM-1 se correlacionó ( $r=0.5$ ) con un mayor grosor intima-media de la carótida.<sup>48,49</sup>

Otros autores por el contrario no han documentado esta diferencia entre ambos grupos, Boulbou y cols demostraron que tanto la DT2 como la HTA como entidades independientes, elevan las moléculas de adhesión y que son parte del proceso inflamatorio vascular en estos pacientes, pero la presencia de ambas enfermedades no generan un efecto aditivo en el desarrollo de aterosclerosis. Nuestro estudio aun en contra de nuestra hipótesis parece apoyar estos resultados. Nosotros observamos que los pacientes con diabetes tipo 2 y los que presentan además HTA, mostraron elevación de las tres moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina) pero sin documentar diferencias significativas entre ambos grupos. Estos resultados pueden estar relacionados a que existan otras moléculas o proteínas como la fibronectina o quimiocinas que puedan marcar la diferencia en el mayor desarrollo de aterosclerosis en el grupo de pacientes con DT2 e HTA.<sup>47</sup>

Cuando analizamos la asociación entre las moléculas de adhesión y las variables bioquímicas. Se observó que la E-selectina fue la única molécula de adhesión que se incrementó en relación al aumento en las concentraciones de glucosa sérica en ayuno, pero sin relación a la HbA<sub>1c</sub>; estos

resultados concuerdan con lo observado por Blüher en pacientes con DT2 y niveles de glucosa sérica en ayuno.<sup>68</sup> Si consideramos que en nuestro estudio, el 66% de ellos estaban mal controlados debemos asumir que ellos desarrollen mayor adherencia de leucocitos en el subendotelio. Así mismo, en los pacientes con DT2 e HTA, el IMC se asoció al incremento de ICAM-1 ( $r=0.380$ ;  $p=0.05$ ) y E-selectina ( $r=0.373$ ;  $p<0.05$ ). Estos resultados ya se han observado en otros estudios en donde se ha identificado a la presencia de adiposidad con el incremento de los niveles de moléculas de adhesión. Este incremento se le atribuye a la secreción de proteínas por los adipocitos como TNF-alfa, IL-6 y resistina que actúan en las vías de señalización de los genes que activan las moléculas de adhesión.<sup>64,69,70,71</sup> La tasa de filtración entre ambos grupos también mostró diferencias significativas siendo menor en el grupo con DT2 e HAS ( $82.56 \text{ mL/min/1.73m}^2$ ) estos resultados muestran que la hipertensión es un factor agregado al desarrollo de daño a nivel glomerular.<sup>72</sup>

Una de las formas más utilizadas para evaluar la presencia de aterosclerosis subclínica en los pacientes con factores de riesgo cardiovascular por ser de bajo costo, no invasivo y reproducible es el ultrasonido carotideo a través del incremento en el grosor íntima-media de la carótida. Existen ya muchos estudios realizados en esta población, donde se ha establecido que el incremento en el IMTc y la presencia de placas de ateroma en forma progresiva están relación directa al aumento en el riesgo de presentar enfermedad cardiovascular o cerebrovascular. Un incremento en el IMTc de 0.1 mm a partir de la p75 de la población aumenta el riesgo de ECV en 15% y de EVC en 18%.<sup>52,57</sup> Nuestro estudio mostro que los paciente del grupo II (DT2 e HTA) presentaron los valores de IMTc más elevados (0.760 mm) con una diferencia significativa ( $p<0.001$ ). Los resultados concuerdan con los estudios de Rizzoni y cols en donde el IMTc fue mayor en los pacientes con DT2 e HAS en comparación con los grupos de HTA; y DT2 sin HTA.<sup>73</sup> Por otro lado, Gómez-Marcos demostró que los diabéticos sin hipertensión presentan mayor IMTc en comparación a los hipertensos no diabéticos. Ellos también concluyen en su estudio que los hipertensos no diabéticos presentan un incremento del IMTc en menor tiempo en comparación a los diabéticos no hipertensos. Este caso no fue motivo de nuestro estudio pero puede generar la posibilidad de seguir a este grupo de pacientes en una segunda fase que permita observar este comportamiento.<sup>57</sup>

Cuando comparamos el riesgo cardiovascular a 10 años estimado por el modelo del American College of Cardiology/American Heart Association 2013, se observó que los pacientes con diabetes e hipertensión presentaban una porcentaje mayor de riesgo de sufrir un evento cardiovascular no fatal a 10 años (16.7%), esto se ha relacionado a la presencia de factores de riesgo como dislipidemia y tabaquismo. En el trabajo de Niu y cols. se evaluó el incremento del IMTc en relación a la presencia de múltiples factores de riesgo cardiovascular, incluyendo la hipertensión sistólica y/o diastólica, diabetes, dislipidemia, tabaquismo y obesidad y concluyen que cada factor de riesgo cardiovascular actúa independientemente en el incremento en el IMTc y en la elasticidad de la arteria carótida y juntos tienen un mayor impacto que los componentes individuales; aun cuando varios componentes

individuales no estén presentes. Esto sugiere que los factores de riesgo existentes interactúan sinérgicamente para impactar en el IMTc.<sup>74</sup>

La presencia de placa de ateroma como predictor de eventos de tipo cardiovascular ya ha sido anteriormente estudiada y se conoce que su presencia incrementa 4 veces más el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.<sup>59</sup> Cuando se asocia la DT2 y la HTA se puede considerar que este riesgo debe ser mayor aun cuando no existan estudios con grandes poblaciones que hayan buscado esta relación. Nuestro estudio es importante porque muestra dicha asociación. Evaluamos la presencia de placas y encontramos que los pacientes con este riesgo son más frecuentes en el grupo con DT2 e HTA en comparación al grupo con DT2 con una diferencia significativa. Así mismo nuestros resultados concuerdan con Salonen y Salonen donde encontraron una asociación entre la hipertensión sistólica y el incremento de la prevalencia de lesiones ateroscleróticas tempranas y avanzadas en las arterias carotideas en una muestra poblacional aleatoria de 1165 hombres.<sup>59</sup> Otros estudios publicados se han realizado con angiotomografía coronaria con resultados similares, sin considerar que este estudio no es factible para realizarlo a toda la población para estratificar el riesgo por sus altos costos y metodología utilizada.<sup>75</sup>

El IMTc en nuestro estudio se asoció a concentraciones más altas de triglicéridos 153 (108 – 206) mg/dL en el grupo con DT2 e HTA con un incremento en el riesgo en 6.5 de desarrollar aterosclerosis carotidea subclínica. La asociación entre el IMTc y la hipertrigliceridemia; se fundamenta en que los niveles altos de triglicéridos incrementan el contenido de triglicéridos y ácidos grasos en los macrófagos, induciendo la expresión de proteínas inflamatorias de los macrófagos, incluyendo TNF- $\alpha$ , interleucina-1 $\beta$ , proteína quimioatrayente de monocitos-1, molécula de adhesión intracelular-1 y matriz metaloproteinasa-3. Además, se ha observado que los productos lipolíticos de los triglicéridos también producen citotoxicidad y apoptosis de los macrófagos, que es un evento que impacta de manera importante en el proceso aterogénico in vivo.<sup>76</sup>

La limitante de nuestro estudio fue probablemente el tamaño de la muestra, que no pudo documentar otra asociación con el IMTc, como ya se ha visto en otras poblaciones de diversos estudios.

## Conclusiones

En nuestro estudio, los pacientes con diabetes e hipertensión arterial, tuvieron mayor incremento del grosor íntima-media de la carótida que los pacientes con diabetes.

La evaluación del riesgo cardiovascular a través de la guía de evaluación de riesgo cardiovascular American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) 2013, puede ser una herramienta útil para estratificar a los pacientes con DT2 e HAS.

Los niveles de E-selectina se asociaron a mayor descontrol metabólico evaluado con el nivel de glucosa sérica en ayuno en ambos grupos de pacientes. En los pacientes con DT2 e HTA, la E-selectina se asoció a glucosa sérica en ayuno y al incremento en el índice de masa corporal; mientras que ICAM-1, solo se asoció al incremento en el índice de masa corporal.

La evaluación del riesgo cardiovascular a través de la guía ACC/AHA 2013 y la obtención del IMTc pueden ser herramientas útiles para identificar el desarrollo de aterosclerosis subclínica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y diabetes tipo 2 con hipertensión arterial, donde la frecuencia de aterosclerosis fue mayor.

## Referencias bibliográficas

---

- <sup>1</sup> American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus -2014. *Diabetes Care*. 2014;37(Supp. 1):S81–S90.
- <sup>2</sup> Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares (2013). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>. Último acceso: 27 de febrero de 2014.
- <sup>3</sup> INEGI. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido (2012). Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/consulta.asp?c=11800#>. Último acceso: 27 de febrero de 2014.
- <sup>4</sup> Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2012). Diabetes mellitus: la urgencia de reforzar la respuesta en políticas públicas para su prevención y control. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/DiabetesMellitus.pdf>. Último acceso: 27 de febrero de 2014.
- <sup>5</sup> González A, Lavalle FJ, Mancha C, Ríos JJ (2012). Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. 4<sup>ta</sup> Edición. Distrito Federal: Intersistemas. ISBN 978-607-443-271-8.
- <sup>6</sup> González A, Lavalle FJ, Ríos JJ (2010). Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. 3<sup>ra</sup> Edición. Distrito Federal: Intersistemas. ISBN 978-607-443-052-3.
- <sup>7</sup> Turan B, Dhalla NS (2014). Diabetic Cardiomyopathy: Biochemical and molecular mechanisms, advances in biochemistry in Health and Disease. Volume 9. Springer Science+Business Media: New York. ISBN 978-1-4614-9316-7 (Print) 978-1-4614-9317-4 (Online).
- <sup>8</sup> Libby P, Ridker P, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:1135–1143.
- <sup>9</sup> Favero G et al. Endothelium and its alterations in cardiovascular diseases: life style intervention. *BioMed Res Int* 2014;2014:1–28.
- <sup>10</sup> Onat D, Brillon D, Colombo P, Schmidt A. Human vascular endothelial cells: A model system for studying vascular inflammation in diabetes and atherosclerosis. *Curr Diab Rep* 2011; 11:193–202.
- <sup>11</sup> Roberts A, Porter K. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2013;10(6):472–482.
- <sup>12</sup> Sena C, Pereira A, Seica R. Endothelial dysfunction – A major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2013;1832:2216–2231.
- <sup>13</sup> Afanasiev O et al. Vascular E-selectin expression correlates with CD8 lymphocyte infiltration and improved outcome in Merkel cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2013;133(8):2065–2073.
- <sup>14</sup> Cai H, Harrison D. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidative stress. *Circ Res* 2000;87:840–844.
- <sup>15</sup> Davignon J, Ganz P. Role of Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(Supp. III):III27–III32.
- <sup>16</sup> Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Consentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J* 2013;34:2436–2446.
- <sup>17</sup> Tousoulis D et al. Diabetes mellitus-associated vascular impairment. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:667-676
- <sup>18</sup> Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, Guzik TJ. NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxid Redox Signal* 2013;00:1–21.
- <sup>19</sup> Chirino YI, Orozco-Ibarra M, Pedraza-Chaverrí J. Participación del peroxinitrito en diversas enfermedades. *Rev Invest Clin* 2006;58(4):350–358.
- <sup>20</sup> Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nature* 2007;7:803–815
- <sup>21</sup> Auvienen K, Jalkanen S, Salmi M. Expression and Function of endothelial selectins during human development. *Immunology* 2014. Artículo aceptado.
- <sup>22</sup> Quin L et al. SOCS1 prevents graft arteriosclerosis by preserving endothelial cell function. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:21–29.
- <sup>23</sup> Barreiro O, Sánchez-Madrid F. Bases moleculares de las interacciones leucocito-endotelio durante la respuesta inflamatoria. *Rev Esp Cardiol* 2009;62(5):552–562.
- <sup>24</sup> Hanley WD, Wirtz D, Konstantopoulos K. Distinct kinetic and mechanical properties govern selectin-leucocyte interactions. *J Cell Sci* 2004;117(12):2503–2511.

- 
- <sup>25</sup> Ponthieux A et al. Age- and sex-related reference values for serum adhesion molecule concentrations in healthy individuals: Intracellular adhesion molecule-1 and E-, P-, and L-selectin. *Clin Chem* 2003;49(9): 1544–1546.
- <sup>26</sup> Song Y et al. Circulating levels of endothelial adhesion molecules and risk of diabetes in an ethnically diverse cohort of woman. *Diabetes* 2007;56(7):1898–1904.
- <sup>27</sup> Radzic R et al. The effects of arterial blood pressure reduction on endocan and soluble endothelial cell adhesion molecules (CAMs) and CAMs ligands expression in hypertensive patients on Ca-channel blocker therapy. *Kidney Blood Pres Res* 2013;37:103–115.
- <sup>28</sup> Fotis L, Giannakopoulos D, Stamogiannou L, Xatzipsalti M. Intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in children. Do they play a role in the progression of atherosclerosis?. *Hormones* 2012;11(2):140–146.
- <sup>29</sup> Nash MC, Wade AM, Shaht V, Dillon MJ. Normal levels of soluble E-selectin, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), and soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) decrease with age. *Clin Exp Immunol* 1996;103:167–170.
- <sup>30</sup> Nappo F. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: Role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(7):1145–1150.
- <sup>31</sup> Albert MA, Glynn RJ, Buring JE, Ridker PM. Differential effect of soluble intercellular adhesion molecule-1 on the progression of atherosclerosis as compared to arterial thrombosis: a prospective analysis of the Women's Health Study. *Atherosclerosis* 2008; 197(1):297–302.
- <sup>32</sup> Yamamoto et al. Type 2 diabetes mellitus complicated by hypertension in japanese patients: Switching treatment from high-dose angiotensin II receptor blockers to losartan plus hydrochlorothiazide. *Intern Med* 2014;53:1283–1289.
- <sup>33</sup> Chen G et al. Cardiovascular outcomes in Framingham participants with diabetes. The importance of blood pressure. *Hypertension* 2011;57:891–897.
- <sup>34</sup> The Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010;375:2215–2222.
- <sup>35</sup> Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, hypertension and cardiovascular disease. *Hypertension* 2001;37:1053–159.
- <sup>36</sup> Gress et al. Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus: Atherosclerosis Risk in Communities Study. *N Engl J Med*. 2000;342:905–912.
- <sup>37</sup> Grundy SM et al. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004; 109: 433–438.
- <sup>38</sup> Sampanis C, Zamboulis C. Arterial hypertension in diabetes mellitus: from theory to clinical practice. *Hippokratia* 2008;12(2):74–80.
- <sup>39</sup> Stone GW et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011;364:226–235.
- <sup>40</sup> Sowers JR, Bakris GL. Antihypertensive therapy and the risk of type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2000;342:969–970.
- <sup>41</sup> Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, Dahlof B, Elmfeldt D, Julius S, Menard J, Rahn KH, Wedel H, Westerling S, for the HOT Study Group. Effects of intensive blood pressure-lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial. *Lancet* 1998;351:1755–1762.
- <sup>42</sup> UKPDS Group. UK Prospective Diabetes Study 38: tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes *BMJ*. 1998;317:703–713.
- <sup>43</sup> The ACCORD Study Group. Effects of intensive blood-pressure control in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2010;362:1575–1585.
- <sup>44</sup> Chobanian AV et al. Seven report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *Hypertension* 2003;42:1206–1252.
- <sup>45</sup> James PA et al. 2014 Evidence-based Guideline for the management of high blood pressure in adults. Report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC8). *JAMA* 2014;311(5):507-520.

- 
- <sup>46</sup> American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes Care*. 2014;37(Supp. 1):S14–S80.
- <sup>47</sup> Boulbou MS et al. Circulating adhesion molecules levels in type 2 diabetes mellitus and hypertension. *Int J Cardiol* 2005;98:39–44.
- <sup>48</sup> Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Medina-Santillán R, Escalante-Acosta BA. Levels of soluble adhesion molecules among normal and hypertensive type 2 diabetic patients. *Gac Med Mex* 2008;144(1):11–14.
- <sup>49</sup> Rubio-Guerra AF et al. Correlation between the levels of circulating adhesion molecules and atherosclerosis in hypertensive type-2 diabetic patients. *Clin Exp Hypertens*. 2010;32(5):308–310.
- <sup>50</sup> Tzoulaki et al. C-Reactive protein, interleukin-6, and soluble adhesion molecules as predictor of progressive peripheral atherosclerosis in the general population: Edinburgh artery study. *Circulation* 2005;112:976–983.
- <sup>51</sup> Katakami N, Kaneto H, Shimomura I. Carotid ultrasonography: A potent tool for better clinical practice in diagnosis of atherosclerosis in diabetic patients. *J Diabetes Invest* 2014;5:3–13.
- <sup>52</sup> Wacker FJ et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects. *Diabetes Care* 2004;27:1954–1961.
- <sup>53</sup> Engelen L et al. Reference intervals for common carotid intima-media thickness measured with echotracking: relation with risk factors. *Eur Heart J* 2013;34(30):2368–2380.
- <sup>54</sup> Sando A et al. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J* 2010;4:302–312.
- <sup>55</sup> Iglesias del Sol A et al. Carotid intima media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction. The Rotterdam Study. *Eur Heart J* 2002;23:934–940.
- <sup>56</sup> Chambless LE 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.
- <sup>57</sup> Gómez-Marcos MA et al. Grosor íntima-media carotídeo en diabéticos e hipertensos. *Rev Esp Cardiol* 2011;64(7):622–625.
- <sup>58</sup> O’Leary DH et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Engl J Med* 1999;340:14–22.
- <sup>59</sup> Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1245-1249.
- <sup>60</sup> Störks S et al. Carotid artery, plaque burden, stiffness, and mortality risk in elderly men. *Circulation* 2004;110:344–348.
- <sup>61</sup> Pértegas Díaz S, Pita Fernández S. Cálculo del tamaño muestral en estudios de casos y controles. *Cad Aten Primaria* 2002; 9: 148–150.
- <sup>62</sup> Goff DC Jr et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2013;00:000–000.
- <sup>63</sup> Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (2012). Evidencia para la política pública en salud. Hipertensión arterial en adultos mexicanos: importancia de mejorar el diagnóstico oportuno y control. Disponible en: <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/HypertensionArterialAdultos.pdf>. Último acceso: 20 de Junio de 2014.
- <sup>64</sup> Lozano-Nuevo et al. Correlation between circulating adhesion molecules and resistin levels in hypertensive type-2 diabetic patients. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2011;10:27–31.
- <sup>65</sup> Leinonen ES et al. Low-grade inflammation, endothelial activation and carotid intima-media thickness in type 2 diabetes. *J Intern Med* 2004; 256: 119–127.
- <sup>66</sup> Hatunic M et al. Vascular inflammatory markers in early-onset obese and type 2 diabetes subjects before and after three months aerobic exercise training. *Diabetes Vasc Dis Res* 2007;4:231–234.
- <sup>67</sup> Glowinska B, Urban M, Peczynska J, Florys B. Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism* 2005;54:1020–1026 .
- <sup>68</sup> Blüher M et al. Relation between glycaemic control, hyperinsulinemia and plasma concentrations of soluble adhesion molecules in patients with impaired glucose tolerance or type II diabetes. *Diabetología* 2002;45:210–216.

- 
- <sup>69</sup> Targher et al. Relation between soluble adhesion molecules and insulin sensitivity in type 2 diabetic individuals. *Diabetes Care* 2001;24:1961–1966.
- <sup>70</sup> Ferri et al. Early Upregulation of Endothelial Adhesion Molecules in Obese Hypertensive Men. *Hypertension* 1999;34:568–573.
- <sup>71</sup> Cottam DR et al. The chronic inflammatory hypothesis for the morbidity associated with morbid obesity: implications and effects of weight loss. *Obes Surg.* 2004;14:589–600.
- <sup>72</sup> The National High Blood Pressure Education Program Working Group. National High Blood Pressure Education Program Working Group report on hypertension in diabetes. *Hypertension.* 1994;23:145–158.
- <sup>73</sup> Rizzoni D et al. Circulating adhesion molecules and carotid artery structural changes in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Hum Hypertens* 2003;17:463–470.
- <sup>74</sup> Niu et al. Impact of multiple cardiovascular risk factors on carotid intima-media thickness and elasticity. *PLoS one* 2013;8(7):e67809.
- <sup>75</sup> Kasami R et al. Relationship between carotid intima-media thickness and the presence and extent of coronary stenosis in type 2 diabetic patients with carotid atherosclerosis but without history of coronary artery disease. *Diabetes Care* 2011;34:468–470.
- <sup>76</sup> Miller M et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123:2292–2333.

Anexos

1. Carta de dictamen de autorización.



## 2. Cronograma de actividades

ACTIVIDAD	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO
<b>Reclutamiento de pacientes</b>						
<b>Aplicación de cuestionarios</b>						
<b>Estudios de laboratorio:</b>						
Glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, HbA <sub>1c</sub> , microalbuminuria						
<b>Estudios de gabinete:</b>						
Ecocardiograma transtorácico						
Ultrasonido doppler carotídeo						
<b>Determinación sérica cuantitativa de moléculas de adhesión:</b> ICAM-1, VCAM-1, E-selectina						
<b>Análisis de resultados</b>						
<b>Entrega de resultados a pacientes</b>						
<b>Entrega de tesis</b>						
<b>Preparación de manuscrito para publicación</b>						

### 3. Formato de recolección de datos



## INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL Centro Médico Nacional Siglo XXI

UMAE Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"  
Unidad de Investigación Médica en Bioquímica

1. Ficha de Identificación			
Fecha: _____	Folio: _____	UMF: _____	Consultorio: _____
Turno: <input type="checkbox"/> Mat.   <input type="checkbox"/> Vesp.			
Nombre: _____			
Sexo: <input type="checkbox"/> Femenino   <input type="checkbox"/> Masculino		Cédula: _____	
Estado civil: <input type="checkbox"/> Casado(a)   <input type="checkbox"/> Soltero(a)   <input type="checkbox"/> Unión libre <input type="checkbox"/> Divorciado(a)   <input type="checkbox"/> Viudo(a)		Información de contacto: Casa: _____ Trabajo: _____ Celular: _____ Correo: _____ Otro: _____	
Lugar de Nacimiento: _____			
Fecha de Nacimiento: _____			
Lugar de Residencia: _____			
Escolaridad:			
<input type="checkbox"/> Primaria	Años: _____	<input type="checkbox"/> Preparatoria	Años: _____
<input type="checkbox"/> Secundaria	Años: _____	<input type="checkbox"/> Profesional	Años: _____
<input type="checkbox"/> Técnico	Años: _____	<input type="checkbox"/> Posgrado	Años: _____
Ocupación: _____		Ingreso mensual: <input type="checkbox"/> < 2000   <input type="checkbox"/> 2000-5000   <input type="checkbox"/> > 5000	
2. Antecedentes personales no patológicos			
Tabaquismo: <input type="checkbox"/> Si    Tiempo: _____ años   No. cigarrillos/día: _____			<input type="checkbox"/> No
Alcoholismo: <input type="checkbox"/> Si    Tiempo: _____ años   No. de copas/día: _____			<input type="checkbox"/> No
Actividad física: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No		Frecuencia: _____ días/semana	
Minutos/sesión: <input type="checkbox"/> 30   <input type="checkbox"/> 60   <input type="checkbox"/> 120		Tipo de actividad física: _____	
Observaciones: _____			
3. Antecedentes Heredofamiliares			
¿Alguien de su familia presentó un evento cardiovascular?			
Madre: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No		Hermana: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No	
Padre: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No		Hermano: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No	
¿Tiene familiar con Diabetes Tipo 2?			
Madre: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No		Hermana: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No	
Padre: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No		Hermano: <input type="checkbox"/> Si   <input type="checkbox"/> No	

¿Alguno de sus familiares padece o padeció enfermedad renal?

- Madre:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Padre:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Hermanos:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Abuelo Materno:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Abuela Materna:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Abuelo Paterno:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No  
Abuela Paterna:  Si, no especificada |  Si, secundario a diabetes |  No

#### 4. Evolución de la diabetes:

¿A qué edad se le diagnosticó la diabetes? \_\_\_\_\_ años de edad

¿A qué edad comenzó con los síntomas? \_\_\_\_\_ años de edad

¿Qué tratamiento toma para la diabetes?

- Glibenclamida:  Si, Dosis: \_\_\_\_\_ mg/día Duración: \_\_\_\_\_ meses |  No  
Metformina:  Si, Dosis: \_\_\_\_\_ mg/día Duración: \_\_\_\_\_ meses |  No  
Pioglitazona:  Si, Dosis: \_\_\_\_\_ mg/día Duración: \_\_\_\_\_ meses |  No  
Rosiglitazona:  Si, Dosis: \_\_\_\_\_ mg/día Duración: \_\_\_\_\_ meses |  No  
Insulina:  Si, Dosis: \_\_\_\_\_ UI/día Duración: \_\_\_\_\_ meses |  No

Si se aplica insulina, especifique tipo(s): \_\_\_\_\_

Otro(s) tratamiento(s):

¿Le han diagnosticado **Hiperuricemia**?

Si |  No

¿Toma tratamiento?

Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

¿Le han diagnosticado **Hipercolesterolemia**?

Si |  No

¿Toma tratamiento?

Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

¿Le han diagnosticado **Hipertrigliceridemia**?

Si |  No

¿Toma tratamiento?

Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

¿Le han diagnosticado **Hipertensión Arterial**?

Si, tiempo de evolución: \_\_\_\_\_ años |  No

¿Toma tratamiento?

Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

¿Presenta alguna **complicación de la Diabetes**?

Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

Observaciones:

**5. Antecedentes personales patológicos**

**Cardiovasculares:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Cerebrovasculares:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Quirúrgicos:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Infecciosos:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Neoplasias:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Enfermedades autoinmunes:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Otros:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**Hospitalizaciones en el último año:**  
 Si, Especifique: \_\_\_\_\_ |  No

**6. Exploración física**

TA Sistólica: _____mm Hg	Peso: _____Kg	Cintura: _____cm	Temp. _____° C
TA Diastólica: _____mm Hg	Talla: _____m	Cadera: _____cm	

**7. Cálculos antropométricos**

IMC: _____Kg/m <sup>2</sup>	Índice Cintura/Cadera: _____cm
-----------------------------	--------------------------------

#### 4. Reporte de resultados de laboratorio



### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Centro Médico Nacional Siglo XXI

UMAE Hospital de Especialidades

Unidad de Investigación Médica en Bioquímica

Paciente:	Folio:
Sexo:	Fecha de cita:
Edad:	Expediente:
Servicio:	NSS:
Diagnóstico:	Consultorio:                      Turno:

#### ANTROPOMETRÍA

De acuerdo a su IMC usted se encuentra:

Estatura:	<b>m</b>	Normal	Sobrepeso	Obesidad	Obesidad severa
Peso:	<b>kg</b>				
Cintura:	<b>cm</b>				
Cadera:	<b>cm</b>				
Presión Arterial:	<b>mmHg</b>				
IMC (BMI):	<b>Kg/m<sup>2</sup></b>				

#### RESULTADOS DE LABORATORIO

Estudio	Resultado	Unidades	Referencia
Glucosa		mg/dL	70 – 100
Urea		mg/dL	15 – 40
Creatinina		mg/dL	0.6 – 1.3
Colesterol Total		mg/dL	< 200
Colesterol HDL		mg/dL	Mujer > 50, Hombre > 40
Colesterol LDL		mg/dL	< 100
Triglicéridos		mg/dL	< 150
HbA <sub>1c</sub>		%	< 7.0
Albúmina en orina		mg/dL	Normal < 30 mg/dL, Microalbuminuria 30 – 299 mg/Dl Macroalbuminuria > 300 mg/dL

#### Resultados validados por:

TFG	000.00	ml/min/1.73m <sup>2</sup>	Estadio	Daño Renal*	TFGe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )
			1	Normal o alta	>90
			2	Disminución leve	60 – 89
			3	Moderada	30 – 59
			4	Grave	15 – 29
			5	Falla Renal	< 15

**RIESGO CARDIOVASCULAR:** 00.0 %

\*Clasificación de la ERC (KDOQI)

## 5. Reporte de ultrasonido doppler carotídeo



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**Centro Médico Nacional Siglo XXI**  
 UMAE Hospital de Cardiología  
 División de Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

Nombre:		Género:	
Edad:	Folio:	Cédula:	
Enviado: Hosp. Especialidades CMNS XXI		Fecha:	Hora:
Estudio: ultrasonido doppler carotídeo			

### Arteria carótida derecha

IMTc Común	Anterior:	mm
	Posterior:	mm
IMTc Bulbo		mm
IMTc Interna	Posterior:	mm
<b>Velocidad</b>		
Sistólica:		cm/segundo
Diastólica:		cm/segundo
<b>Diámetro</b>		
Sistólico:		mm
Diastólico:		mm

### Arteria carótida izquierda

IMTc Común	Anterior:	mm
	Posterior:	mm
IMTc Bulbo		mm
IMTc Interna	Posterior:	mm
<b>Velocidad</b>		
Sistólica:		cm/segundo
Diastólica:		cm/segundo
<b>Diámetro</b>		
Sistólico:		mm
Diastólico:		mm

### Diagnóstico:

### Observaciones:

## 6. Carta de consentimiento informado.



### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI  
Coordinación de Investigación en Salud  
Comisión Nacional de Investigación Científica  
Unidad de Investigación Médica en Bioquímica

### Carta de Consentimiento Informado

México D.F. a \_\_\_\_\_

**1. Nombre del estudio: Escaneo genómico completo del paciente con diabetes tipo 2 para la búsqueda de nuevos marcadores de asociación con la enfermedad.**

Este proyecto fue aprobado por la Comisión Nacional de Investigación del IMSS con el número R-2011-785-018.

**2. Propósito del estudio.**

Lo(a) estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, del Instituto Mexicano del Seguro Social, Siglo XXI. El estudio tiene como propósito conocer la composición genética (herencia genética de sus padres) de la población que vive en la Ciudad de México y la búsqueda de secciones de material genético, asociadas a la diabetes tipo 2, para identificar las posibles regiones de susceptibilidad a padecer la enfermedad. Esta condición de susceptibilidad genética se ha puesto de manifiesto por los estilos de vida actual: mala alimentación (consumo excesivo de grasa y azúcares) y la falta de actividad física, que contribuyen al desarrollo de obesidad, hipertensión y la aparición cada vez más temprana de la diabetes. Ante esta situación que estamos enfrentando de México, es prioritario conocer más sobre estos genes cuya relación con la diabetes está descrita en el estudio. Para la realización del estudio estamos invitando a que participen individuos con y sin diabetes, por lo que pensamos que usted pudiera ser un buen candidato. Al igual que usted, más de 3000 pacientes con diabetes tipo 2 que son atendidos en las clínicas del IMSS y 2300 donadores de sangre, serán invitados a participar en el estudio.

En el entendido que su participación es completamente voluntaria, le pedimos que por favor lea la información que le proporcionamos y haga las preguntas que desee antes de decidir si quiere o no participar.

**3. Procedimientos.**

Si usted acepta participar en el estudio, deberá presentarse en el laboratorio de la Unidad de Investigación en Bioquímica, en ayuno de 12 horas, para la toma de la muestra de sangre de 20 mL (el equivalente a dos cucharadas) para los estudios bioquímicos que incluyen: determinación de glucosa (azúcar) y, lípidos (grasas) y la obtención del DNA para los estudios genéticos (marcadores de herencia presentes en los humanos) y así conocer los potenciales riesgos a padecer enfermedades como la diabetes tipo 2. Además, incluiremos otras valoraciones clínicas como el peso y la talla, la presión arterial, cuestionarios generales (lugar donde vive, escolaridad, ingreso mensual) y antecedentes heredofamiliares de enfermedades. Algunas de las preguntas pudieran ser incómodas de contestar, usted está en todo su derecho de no responder. Posteriormente, se le realizará un ultrasonido no invasivo de cuello en el que se valorará ambas arterias carótidas. Todo el procedimiento nos llevará aproximadamente 40 a 60 minutos.

Posterior al análisis de los resultados, nos comprometemos a entregarle una evaluación médica en un periodo de ocho días hábiles después de la toma de la muestra sanguínea.

Queremos aclararle que su muestra será cuidadosamente resguardada en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Bioquímica y la identidad de cada participante estará protegida usando un código numérico en lugar de su nombre. Nunca manejaremos nombres o proporcionaremos los datos a ninguno de los colaboradores del estudio.

Esta información solamente será conocida en nuestra Unidad de Investigación por el responsable del proyecto.

**4. Riesgos y molestias.**

El protocolo de investigación no representa ningún riesgo para la salud de los participantes, quizás un riesgo mínimo en la toma de muestras sanguíneas. Entre las posibles molestias están el dolor o la posibilidad de la formación de un hematoma (moretón) en el sitio de la punción. Si usted llegara a sufrir alguna complicación, el Dr. Jesús Peralta Romero podrá atenderlo o aclarar sus dudas.

**5. Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio.**

No recibirá ningún pago por su participación en este estudio, tampoco representa un gasto para usted. Al aceptar participar, tendrá una evaluación médica completa y estudios de laboratorio completos para conocer sus niveles de glucosa (azúcar) y lípidos (grasas) en la sangre. Si los resultados son anormales, usted recibirá una carta con el consejo médico para que lo atiendan en su clínica correspondiente. Los resultados del estudio genético, contribuirán al avance en el conocimiento de cómo nuestros genes (herencia) nos dan susceptibilidad al desarrollo de la diabetes tipo 2.

**6. Resultados.**

- a) Evaluación clínica completa realizada por médicos especialistas (nefrólogos, neurólogos y médico internista).
- b) Resultados de laboratorio clínico impresos.
- c) Explicación de los resultados y asesoría médica.
- d) Carta con el consejo médico para su clínica correspondiente.

**7. Participación o retiro del estudio.**

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS. La decisión que tome no afectará su derecho a obtener los servicios de salud que recibe en nuestra Institución.

**8. Privacidad y Confidencialidad.**

La información que nos proporcione (nombre, teléfono(s) y dirección) será guardada de manera confidencial y por separado al igual que las respuestas a los cuestionarios y las pruebas clínicas. El equipo de investigadores sabrá que usted está participando en este estudio y nadie más tendrá acceso a la información proporcionada. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, no se dará información que pudiera revelar su identidad.

A cada participante se le asignará un número para identificar sus datos.

**9. Garantía de atención médica en caso necesario**

En caso de presentarse una emergencia derivada del estudio, usted puede dirigirse a su clínica de adscripción y/o marcar al teléfono 56276900 ext. 21477 de lunes a viernes.

**10. Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio.**

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre el estudio de investigación, puede comunicarse de 8:00 a 16:00 horas, de lunes a viernes con el Dr. Miguel Cruz López investigador responsable, al teléfono: 56276900 ext. 21477 o acudiendo directamente a la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica ubicada en el primer piso del Hospital de Especialidades en el Centro Médico Nacional Siglo XII del IMSS. Dirección: Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México, D.F.

**11. Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación.**

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 tel. 56276900-21216, de 9:00 a 16:00 horas, de lunes a viernes; o si así lo prefiere al correo electrónico: conise@cis.gob.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.

**12. Declaración de consentimiento informado.**

Declaro que se me han informado los posibles riesgos si acepto participar, como la formación de un moretón en el sitio de la punción.

También se me ha informado sobre los beneficios tales como la evaluación integral por el médico participante, la entrega de los resultados por escrito y la recomendación médica en caso de observar alguna complicación. Además se me explicó que podré contribuir al estudio genético para el conocimiento sobre la susceptibilidad a padecer diabetes tipo 2 que tenemos los mexicanos. Se me explicó ampliamente que todos mis datos serán manejados de forma anónima y confidencial, también tengo la libertad de abandonar el estudio al momento que lo considere. El investigador principal y el equipo médico, se han comprometido a darme información oportuna sobre cualquier pregunta y los riesgos y beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi enfermedad.

Además, los investigadores se comprometen al uso no lucrativo y responsable de las alícuotas de DNA (no comercialización, no ruptura del anonimato) por parte de las instancias que participan dentro y fuera del IMSS.

**Por favor marque con una X una de las opciones caja que se presenta abajo (únicamente debe indicar la opción que corresponda).**

Si autorizo se almacene la alícuota de DNA para estudios futuros que pudieran realizarse dentro de los 10 años siguientes.

No autorizo se almacene la alícuota de DNA para estudios futuros que pudieran realizarse.

Nombre completo del participante

Firma del participante

Fecha

**Firma del encargado de obtener el consentimiento informado.**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en el estudio de investigación.

Nombre del encargado de obtener el consentimiento informado

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Fecha

**Firma de los testigos.**

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre y dirección del Testigo 1

Firma del testigo

Parentesco con participante

Fecha

Nombre y dirección del Testigo 2

Firma del Testigo

Parentesco con participante

Fecha

