



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**SUSCEPTIBILIDAD A LA OXIDACIÓN DE LAS
LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD EN
PACIENTES ADOLESCENTES CON DIABETES
MELLITUS TIPO 1**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DRA. ANA LUISA PRIEGO ZURITA

TUTORA:

D en C. Patricia Guadalupe Medina Bravo.



CIUDAD DE MÉXICO.

Febrero, 2017

HOJA DE FIRM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

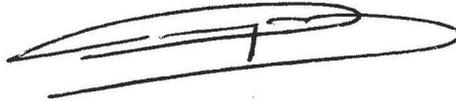
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.

HOJA DE FIRMAS

DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO



D. en C. PATRICIA GUADALUPE MEDINA BRAVO
MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

AGRADECIMIENTOS

A mi familia y a mi esposo, por siempre estar a mi lado.

A mi maestros, por guiar mi aprendizaje.

A mis pacientes, por permitirme aprender de ellos.

INDICE

1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN	6
3. MARCO TEÓRICO	7
4. ANTECEDENTES	8
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	13
7. JUSTIFICACIÓN.....	14
8. OBJETIVOS.....	15
9. HIPÓTESIS.....	16
10. MÉTODOS	17
11. CONSIDERACIONES ÉTICAS	19
12. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
13. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.....	21
14. RESULTADOS FINALES.....	24
15. DISCUSIÓN	26
16. CONCLUSIÓN	28
17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.....	29
18. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	30
19. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. RESUMEN

Objetivo. La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de muerte en los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1). La etiopatogenia de la aterosclerosis en la DM1 es multifactorial. Una parte importante del riesgo cardiovascular en pacientes con DM1 podría estar mediado por anomalías lipídicas. En adultos con DM1 se han documentado alteraciones cualitativas de las lipoproteínas de baja densidad, como un aumento de las LDL pequeñas y densas, y una oxidación aumentada de estas lipoproteínas. En niños con DM1, son pocos los estudios que han evaluado las características de las LDL. Nuestro objetivo fue evaluar el tamaño, composición y susceptibilidad a la oxidación de las LDL en adolescentes con DM1, comparadas con adolescentes no diabéticos.

Material y Métodos. Estudio transversal, comparativo. Se incluyeron adolescentes de 12 a 16 años de edad, de ambos géneros. El grupo 1 formado por 33 adolescentes con diagnóstico de DM1, sin evidencia de complicaciones microvasculares; el grupo 2 por 26 adolescentes sin diabetes o dislipidemia, de la misma edad, género e índice de masa corporal. A todos los adolescentes se les realizó un cuestionario de antecedentes, examen físico y antropometría. Se determinaron en una muestra de sangre venosa en ayuno glucosa, colesterol total, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, ApoA, ApoB, composición y tamaño de las LDL. Se midió la susceptibilidad a la oxidación de las LDL, por el método de Esterbauer.

Resultados. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a edad, distribución por género, IMC y estadio de Tanner entre ambos grupos. En el grupo de adolescentes sin DM1 se encontraron valores mayores de tensión arterial sistólica ($p < 0.001$) y triglicéridos ($p < 0.001$), comparados con adolescentes con DM1. Se observó una tendencia a mayor concentración de ApoB en pacientes con DM1 ($p = 0.061$). Los pacientes con DM1 tuvieron partículas LDL con menor contenido de fosfolípidos ($p = 0.008$), colesterol libre ($p = 0.004$) y ésteres de colesterol ($p = 0.003$), comparados con adolescentes sin DM1. En cuanto a la oxidabilidad de las LDL, no se encontró diferencia significativa en la fase de latencia, valor máximo o en la medición de dienos iniciales o finales entre ambos grupos.

Conclusiones. La composición de las LDL en adolescentes con DM1 es diferente que en adolescentes sin diabetes, sin embargo, la susceptibilidad a la oxidación es semejante en ambos grupos. Se deben realizar estudios para evaluar si la composición diferente de las LDL en pacientes con DM1 se asocia a mayor riesgo cardiovascular.

2. INTRODUCCIÓN

El término Diabetes Mellitus describe un cuadro complejo de alteraciones metabólicas en el que ocurre hiperglucemia sostenida secundaria a defectos en la secreción, acción o ambos de la insulina. A pesar de que su etiología es heterogénea la mayoría de los casos se puede clasificar de acuerdo a la etiopatogenia en dos grandes grupos, diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2 (1).

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune que se desarrolla en individuos genéticamente predispuestos ante factores ambientales desencadenantes. La destrucción de las células beta culmina en la deficiencia absoluta de insulina. Las manifestaciones clínicas inician cuando existe una destrucción del 90% de las células beta (1).

Se diagnostica en su mayoría durante la niñez y la adolescencia, sin embargo hasta una cuarta parte de los casos se presenta en la edad adulta. Tiene una presentación bimodal con el primer pico de incidencia entre los 5 y 7 años de edad y el segundo en la pubertad. Ambos géneros son igualmente afectados (2).

La DM1 representa 5-10% del total de casos de DM a lo largo de la vida a nivel global. En los países de occidente representa hasta el 90% durante la niñez y adolescencia.

Se estima que a nivel mundial tiene una incidencia anual de 80,000 casos en menores de 15 años. Esta varía de manera importante de país a país encontrando las tasas más altas en Finlandia, Europa del Norte y Canadá y las más bajas en China y Venezuela. (1)

Se estima que en América del Norte y el Caribe hay 108,600 niños con DM1 y que Estados Unidos representa el 80% de estos casos. La Federación Internacional de Diabetes (IDF) estima una incidencia anual en México de 6.2 casos por 100,000 (3).

La susceptibilidad está dada por más de 60 genes. El genotipo del antígeno leucocitario humano confiere alrededor del 50% del riesgo.

3. MARCO TEÓRICO

La DM1 tiene complicaciones a corto plazo como lo son la cetoacidosis diabética y la hipoglucemia. De igual manera pueden presentarse complicaciones a largo plazo las cuales pueden dividirse en microvasculares y macrovasculares. Las primeras incluyen retinopatía diabética, nefropatía y neuropatía. Las complicaciones macrovasculares relacionadas a la DM1 incluyen enfermedad cardíaca, enfermedad vascular periférica y accidentes vasculares. Rara vez son clínicamente evidentes en la niñez y adolescencia sin embargo las alteraciones estructurales y funcionales pueden estar presentes pocos años después del diagnóstico (4). Existen factores de riesgo para el desarrollo de las complicaciones como lo son una mayor duración de la enfermedad, mayor edad, mayor índice de masa corporal (IMC) mayor y estados puberales.

La enfermedad cardiovascular (ECV) se presenta hasta 10 veces más en los pacientes con DM1 que en la población general y la morbimortalidad secundaria a esta es mayor en este grupo de pacientes. La mayoría de los estudios muestran que el riesgo para desarrollar ECV es igual en el género masculino y femenino lo cual indica una pérdida del efecto protector que confiere pertenecer a este último en la población sin DM (5).

Los individuos con DM1 se encuentran en riesgo de presentar hipercolesterolemia. El colesterol juega un papel clave en el inicio y progresión de la aterosclerosis y aún en pacientes con DM1 con adecuado control y sin alteraciones evidentes en el perfil de lípidos convencional, existe un patrón aterogénico al estudiar las subclases de lípidos (4).

La aterosclerosis es la causa más común de enfermedad cardiovascular. La dislipidemia es un factor de riesgo independiente para su desarrollo. Inicia en la niñez y adolescencia con el engrosamiento de la íntima y media de la carótida y aorta. El engrosamiento coronario y eventos cardiovasculares están asociados a pobre control glucémico.

4. ANTECEDENTES

La DM1 es un factor de riesgo importante para la aterosclerosis. Las alteraciones lipídicas observadas en este grupo de pacientes son principalmente en la calidad de las lipoproteínas. Dichas alteraciones promueven la aterogénesis. Existen cambios en el perfil de lípidos propias de los pacientes con DM1. Estas pueden ser cuantitativas o cualitativas y dependen del tratamiento y el control de la enfermedad (5).

Las lipoproteínas son partículas esféricas que transportan en el plasma partículas hidrofóbicas como el colesterol y triglicéridos. Se clasifican de acuerdo a su densidad en quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), de intermedia densidad (IDL) de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL).

Los mecanismos que aceleran la aterosclerosis en pacientes con DM1 no se han entendido por completo, sin embargo se han asociado al control glucémico, estrés oxidativo, marcadores de resistencia a la insulina y marcadores inflamatorios (12). Se sabe que la oxidación de LDL es un evento clave para su inicio. (9)

Las LDL son el producto final de la cascada VLDL-IDL-LDL. Es la principal lipoproteína transportadora de colesterol en plasma. Cada partícula contiene una molécula de apoB100 que participa en el reconocimiento del receptor LDL B,E. El 70% por ciento de éstos está localizado en las células hepáticas y el resto en otras células del cuerpo y participan activamente en el aclaramiento de LDL (5). Si bien los niveles elevados de LDL se relacionan con la aterosclerosis, su forma natural no es aterogénica, es su versión oxidada la que le confiere este efecto (11).

Desde hace algunos años gran cantidad de evidencias experimentales han atribuido a los radicales libres y especialmente, a la peroxidación lipídica, un papel preponderante en la patogénesis de la aterosclerosis, debido a que las modificaciones estructurales que experimentan las LDL tras la acción oxidante de los radicales libres, pueden aumentar sus propiedades aterogénicas (14).

Las LDL sufren una modificación oxidativa progresiva en pacientes con DM y un incremento en el estrés oxidativo y en la cantidad de LDL oxidadas han sido propuestos como factores de riesgo para aterosclerosis. Algunos estudios en adultos han sugerido mayor susceptibilidad a la

oxidación de LDL en adultos con DM1 con mal control glucémico (9,10).

Las LDL en el espacio subendotelial son más susceptibles a la oxidación que las circulantes, ya que el plasma tiene una alta capacidad antioxidante. Las LDL oxidadas se acumulan en los macrófagos transformándolos en células espumosas en la íntima arterial donde estimulan la proliferación de músculo liso. (9)

El O₂ y las LDL oxidadas, extinguen el ON, disminuyen su biodisponibilidad y por lo tanto inhiben la vasodilatación mediada por fuentes endógenas y exógenas de ON (10).

El comportamiento cinético de formación de dienos conjugados muestra tres fases diferentes . Una primera denominada fase de latencia en la que la densidad óptica experimenta solo ligeros aumentos, una segunda en la que la absorbancia aumenta rápidamente hasta un valor máximo denominado fase de progresión y la tercera o fase de descomposición, en la que después de alcanzado el valor máximo comienza una lenta disminución de la absorbancia a causa de la transformación de los dienos en aldehídos.

El tiempo de latencia (tlat.) para el inicio de la oxidación se determina a partir de intercepto de la tangente de la primera fase (fase lenta) con la tangente de la segunda fase (fase de progresión) y la velocidad máxima de generación de dienos en la fase de progresión (velocidad de progresión) se determina a partir de la tangente de la segunda fase.(13)

Kara y colaboradores, realizaron un estudio en el que midieron anticuerpos en contra de partículas LDL oxidadas por la técnica de ELISA en pacientes con DM1 de al menos 3 años de evolución y en un grupo control. Encontraron que los niveles de estos anticuerpos eran mayores en el grupo de pacientes con DM1. Al comparar estas mediciones entre pacientes con DM1 con adecuado e inadecuado control glucémico en base al valor de hemoglobina glicada (HbA1c) se encontraron resultados contradictorios, ya que los niveles de anticuerpos fueron mayores en los pacientes con adecuado control. Al buscar correlación entre la edad, IMC, duración de la enfermedad, lípidos y HbA1c, solo la última tenía una correlación importante con los niveles de oxidación de LDL. Esto condujo a la conclusión de que, como ha sido demostrado en otros estudios, el incremento en la formación de inmunocomplejos de LDL oxidadas y anticuerpos en la pared vascular conduce a un decremento en los niveles circulantes de estos anticuerpos (9).

Jarvisalo y colaboradores realizaron un estudio en 142 pacientes de 8 a 17 años. Participaron 87 individuos sanos, 41 con diagnóstico de DM1 y 14 con hipercolesterolemia familiar. Se

incluyeron pacientes con tensión arterial normal, sin otras enfermedades crónicas además de la DM1 y que esta tuviera una duración de al menos 6 meses. Se midió la dilatación de la arteria braquial mediada por flujo endotelio-dependiente, la función del músculo liso mediada por nitrato, grosor de la íntima-media del bulbo carotídeo y de la arteria braquial y LDL oxidadas, estas últimas por medio de la técnica de ELISA. Una función endotelial reducida, incremento en el estrés oxidativo y aterosclerosis carotídea preclínica fueron determinantes independientes de alteración en la dilatación mediada por nitrato. El análisis univariado reveló una respuesta de dilatación mediada por nitrato reducida con una asociación inversa con la presencia de DM1, edad, IMC, LDL oxidadas, diámetro basal de la arteria braquial y grosor de la íntima-media braquial. Al excluir a los pacientes con DM1 del análisis las asociaciones mencionadas persistieron sin embargo la asociación entre alteración en la dilatación mediada por nitrato y las LDL oxidadas desapareció. Estos hallazgos demuestran que la respuesta vasodilatadora a un estímulo exógeno de ON (óxido nítrico) está relacionado de manera íntima con la función endotelial en niños (10).

Brito Gomes y colaboradores realizaron un estudio transversal que incluyó 118 pacientes con DM1 con y sin complicaciones crónicas y 110 controles. De los pacientes del grupo problema 38 tenían complicaciones crónicas; tenían una edad menor a 30 años y carecían de datos de descompensación o proceso infeccioso agudo. Se midieron marcadores inflamatorios de bajo grado que incluían el factor activador plaquetario acetilhidrolasa (PAF-AH), proteína C reactiva ultrasensible (PCR), leucocitos, velocidad de sedimentación globular (VSG) y coeficiente de oxidación de LDL y se analizó su relación con complicaciones clínicas y metabólicas. Dentro de los resultados se encontró que los pacientes con DM1 tuvieron oxidación de LDL más temprana a la hora y a las 3 horas al compararlos con los controles. En cuanto a los demás marcadores se encontraron diferencias significativas al comparar el grupo de pacientes con DM1 y los controles. Por otra parte, la comparación de los pacientes con y sin complicaciones en el grupo problema, reveló diferencias significativas únicamente en el conteo de leucocitos. Esto llevó a la conclusión de que la elevación de estos marcadores es independiente de la presencia de complicaciones clínicamente evidentes, por lo tanto sugiere el desarrollo de un estado pro-inflamatorio temprano (12).

Guy y colaboradores realizaron un estudio transversal, cuyo objetivo fue comparar las características del perfil lipídico y la prevalencia de sus alteraciones en pacientes con y sin DM1, así como comparar el impacto del control glucémico sobre el perfil lipídico en el grupo con DM1. Incluyeron a 522 pacientes de 10 a 22 años con DM1 y 188 controles de la misma

edad. Se definió adecuado control glucémico como un valor de hemoglobina glicada menor o igual a 7.5%. Los pacientes con un control glucémico adecuado tuvieron patrones menos aterogénicos en el perfil lipídico que aquellos con inadecuado control e incluso que los controles. Independientemente del control metabólico, los pacientes con DM1 tuvieron niveles mayores de ApoB ($p < 0.0001$) y partículas LDL más densas y pequeñas (15).

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de muerte en los pacientes con DM1. La etiopatogenia de la aterosclerosis en esta enfermedad es multifactorial. Una parte importante del riesgo cardiovascular en pacientes con DM1 podría estar mediado por anomalías lipídicas.

A pesar de la evidencia experimental de que la peroxidación lipídica juega un papel fundamental en la patogénesis de la aterosclerosis, son escasos los estudios que han investigado su papel en niños con DM1.

Si bien los niveles elevados de LDL se relacionan con la aterosclerosis, su forma natural no es aterogénica, es su versión oxidada la que le confiere este efecto

Hasta el momento existen pocos estudios que evalúen las características de las LDL en población pediátrica con DM1.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Son las partículas LDL más susceptibles a la oxidación en pacientes pediátricos con DM1 que en niños sanos?

7. JUSTIFICACIÓN

La DM1 es una de las enfermedades crónicas más frecuentes en la infancia. La mayoría de los casos se diagnostican durante la niñez y la adolescencia. Padecerla se asocia a un incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular en la edad adulta.

La enfermedad arterial coronaria es una de las principales causas de mortalidad en estos pacientes. El riesgo cardiovascular en pacientes con DM1 podría estar mediado por anomalías lipídicas. En adultos con DM1 se han documentado alteraciones cualitativas de las LDL, como un aumento de las LDL pequeñas y densas, y una oxidación aumentada de estas lipoproteínas. Existen pocos estudios que hayan evaluado las características de las partículas de LDL en población pediátrica con DM1.

Conocer más acerca de las características de las LDL en pacientes pediátricos con DM1 permitirá intensificar la terapia enfocada a disminuir el riesgo cardiovascular en este grupo de pacientes y por consiguiente reducir la morbimortalidad relacionada a esta complicación macrovascular, ya que existe evidencia de que la aterogénesis inicia de la infancia.

8. OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la susceptibilidad a la oxidación de las partículas de LDL en pacientes con DM1.

ESPECÍFICOS

Evaluar el tamaño y composición de las LDL en adolescentes con DM1, comparadas con adolescentes no diabéticos.

Comparar la susceptibilidad a la oxidación de las LDL en pacientes con DM1 y niños sanos.

9. HIPÓTESIS

Las partículas de LDL en pacientes con DM1 son más susceptibles a la oxidación en comparación con las de niños sanos.

10. MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal comparativo en el cual se incluyeron adolescentes de 12 a 16 años de ambos géneros. El grupo 1 se integró por pacientes de la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México Federico Gómez con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 1 de acuerdo a los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), en quienes no se documentaran complicaciones microvasculares tras la búsqueda intencionada de estas por medio de valoración de fondo de ojo por el servicio de oftalmología en el caso de la retinopatía diabética, microalbuminuria en orina de 24 horas en el caso de la nefropatía diabética y velocidad de conducción nerviosa el caso de la neuropatía diabética. El grupo 2 incluyó individuos reclutados en una escuela secundaria de la Ciudad de México, de la misma edad, género e índice de masa corporal, sanos y con perfil lipídico normal. Se excluyeron adolescentes con alteraciones en las pruebas de función tiroidea, hepática y renal así como aquellos con historia de tabaquismo e infecciones graves recientes. Se excluyeron también adolescentes en tratamiento con medicamentos reguladores de lípidos, derivados de ácido retinoico, estrógenos, esteroides o tiazidas.

A todos los participantes se les realizó un cuestionario de antecedentes, examen físico, se midió el peso en básculas calibradas, la talla en estadiometro de pared y tensión arterial con manguitos de tamaño adecuado para la edad. Se calculó el índice de masa corporal (IMC) por el método de Quetelet y se consideró sobrepeso cuando su valor se encontró entre el percentil 85 y 94 y obesidad cuando fue mayor a percentil 95. Se obtuvo sangre venosa de la vena cubital tras ayuno mínimo de 10 horas. Se determinaron glucosa, colesterol total, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, ApoA, ApoB, composición y tamaño de las LDL. El plasma se separó mediante centrifugación a 4° C con EDTA a 2500 revoluciones por minutos (rpm) y se almacenó a -70° C (usando aprotinina y benzamidina como inhibidores de proteasas) para su análisis posterior. La glucosa se determinó mediante espectrofotometría con técnica bicromática de punto final, con un equipo de Dimensión XL. La hemoglobina glucosilada A1c se determinó mediante equipo automatizado por cromatografía. El colesterol HDL (c-HDL) se midió mediante espectrofotometría con técnica policromática de punto final (452, 540, 700 nm). El colesterol LDL (c-LDL) se calculó mediante la fórmula de Friedewald modificada por De Long. En el caso de los triglicéridos se realizó la medición mediante espectrofotometría con técnica cinética bicromática (340,383 nm).

La susceptibilidad a la oxidación de las LDL se determinó mediante el método de Esterbauer et al. En este, tras el aislamiento de las LDL, se agregó Cu^{2+} . Este procedimiento permite monitorizar de manera continua el cambio de la absorbancia de dienos 234 nm en relación con el tiempo. Esta absorbancia se desarrolla en las LDL durante la oxidación a través de la formación de hidroperóxidos conjugados de ácidos grasos. Consta de 3 fases: fase de latencia, transcurre desde la adición de Cu^{2+} hasta el inicio de la fase rápida de oxidación, representa el tiempo que tarda la partícula en empezar a oxidarse, en ella la absorbancia de dienos incrementa de manera discreta; fase de propagación, en la cual ocurre un ascenso rápido de los dienos a un valor máximo; fase de descomposición, llamada así porque en ella ocurre descomposición de los lípidos hidroxiperóxidos.

El tamaño de las LDL se determinó por el método de Krauss y Burke. Las muestras de plasma total se aplicaron a un gel en gradiente de poliacrilamida. Los tamaños de LDL se calcularon interpolando los resultados de la muestra problema en una curva de tamaños conocidos de LDL. En cada gel se incluyó además una curva con marcadores de alto peso molecular y una cama de látex. Los geles se analizaron por densitometría óptica.

Para la composición de las LDL se evaluó contenido de proteínas totales, colesterol total, colesterol libre, fosfolípidos, triglicéridos, apolipoproteínas.

Las concentraciones de apolipoproteína A y apolipoproteína B se obtuvieron por inmunonefelometría. Procesadas en un nefelómetro Pro Spec (Dade Behring Marburg).

11. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo fue aprobado por las comisiones de Ética e Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Se obtuvo consentimiento informado de los padres y asentimiento verbal de los menores previo a la medición.

En el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, los estudios de investigación se clasifican por la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño o consecuencia por lo realizado. Las categorías establecidas son estudios sin riesgo, de riesgo mínimo y de riesgo mayor al mínimo. Este proyecto se considera un estudio de riesgo mínimo al paciente, conforme lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el artículo 17, sección II. Dicho artículo establece que entran dentro de esta clasificación los estudios prospectivos que emplean datos a través de exámenes físicos y extracción de sangre por punción venosa en pacientes con buen estado de salud (con frecuencia máxima de 2 veces por semana y volumen máximo de 450ml en 2 meses), entre otras acciones. Estas 2 acciones se llevarán a cabo en el estudio, ya que se realizó un cuestionario de los antecedentes del paciente y con datos de la enfermedad de base (diabetes mellitus) en los casos que aplicó y un examen físico general. Se obtuvo una muestra de sangre venosa única de 10 ml por punción para determinar las variables metabólicas.

12. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico STATA Vo 11.0 .

Se realizó estadística descriptiva, con medidas de tendencia central y dispersión. Para comparar las variables cuantitativas entre ambos grupos se empleó t de Student para muestras independientes. Para valorar la susceptibilidad a la oxidación (dienes conjugados) en pacientes con DM1 y en niños sanos se utilizó la prueba de X^2 .

Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

13. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable Independiente: Diabetes Mellitus tipo 1.

Variable de Dependiente: Susceptibilidad a la oxidación de LDL.

Diabetes mellitus tipo 1: alteración en la producción de insulina de origen autoinmune que condiciona hiperglucemia. Se determina en base a los criterios de la ADA.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

Género: grupo al que se asigna a un individuo de acuerdo a su fenotipo, femenino o masculino.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

Edad: tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la medición. Se determina en base a la fecha de nacimiento.

Unidad de medición: años.

Escala de medición: numérica, continua.

Talla: distancia entre el vértex y el plano de sustentación; el paciente se coloca de pie, completamente estirado, con los talones juntos. Se coloca la cabeza del paciente en el plano de Frankfurt y se realiza una tracción de la cabeza a nivel de las apófisis mastoides. Se desciende lentamente la plataforma horizontal del estadiómetro hasta contactar con la cabeza del paciente, se obtendrá la talla máxima y se ajustará al centímetro más próximo (16).

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: metros.

Peso: se determinó mediante báscula de pie (precisión de 100 grs.); con el paciente en el centro de la plataforma de la báscula distribuyendo el peso por igual en ambas piernas. La medida se realizó con el paciente en bata clínica y se registrará la décima de kilogramo más próxima.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: kilogramos.

Índice de masa corporal: medida de asociación entre la masa y la talla de un individuo que se utiliza como parámetro para evaluar el estado nutricional de un individuo. Se calcula por el método de Quetelet y resulta de dividir el peso en kilogramos entre el cuadrado de la talla en metros.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: kg/m^2 .

Tensión arterial: cada medición se realizó con el paciente sentado, en reposo; con un esfigmomanómetro de mercurio, con un brazaletes que cubrió los 2/3 del brazo realizada a la altura del corazón en el brazo derecho. Se realizaron tres determinaciones y el promedio de la segunda y tercera determinación fue el valor de la tensión arterial. Se percentilaron de acuerdo a edad, sexo y talla, con la tablas establecidas en el reporte Task Force.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mmHg.

Glucosa: se determinó mediante espectrofotometría con técnica bicromática de punto final, con un equipo de Dimensión XL.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg/dl.

Hemoglobina glicada A1c: se realizó la determinación mediante equipo automatizado por cromatografía.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: %.

Colesterol HDL (C-HDL): cantidad de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad, determinado mediante espectrofotometría con técnica policromática de punto final (452, 540, 700 nm).

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg /dl.

Colesterol LDL (C-LDL): cantidad de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad. Se realizó el cálculo mediante la fórmula de Friedewald modificada por De Long.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg /dl.

Triglicéridos: éster derivado del glicerol y tres ácidos grasos perteneciente a la familia de los lípidos. Se realizó la medición mediante espectrofotometría con técnica cinética bicromática (340,383 nm).

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg /dl.

Susceptibilidad de las LDL a la oxidación: cambios en la absorbancia de dienos 234 nm a lo largo del tiempo tras la adición de Cu^{2+} a partículas LDL previamente aisladas. Se determinó mediante el método de Esterbauer et al.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: minutos.

Tamaño de las LDL: se determinó por el método de Krauss y Burke.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: nm.

Apolipoproteína A: componente proteico de las lipoproteínas. Se determinó mediante inmunonefelometría.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg/dl.

Apolipoproteína B: componente proteico de las LDL, VLDL y quilomicrones. Se determinó mediante inmunonefelometría.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Unidad de medición: mg/dl.

Composición de las LDL: contenido de proteínas totales, colesterol total, colesterol libre, fosfolípidos, triglicéridos, apolipoproteínas (apo-AI, apoAIV, apoE y apoC).

Escala de medición: cuantitativa, continua.

14. RESULTADOS FINALES

En el grupo 1 se incluyeron 33 pacientes con diagnóstico de DM1 y en el grupo 2 se incluyeron 26 individuos sanos de la misma edad, género e IMC.

En la Tabla 1 se muestran las características demográficas metabólicas y clínicas de ambos grupos. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a las características demográficas en la población de estudio. La edad promedio en el grupo de DM1 fue de 13.18 ± 1.66 años, en el grupo control de 13.02 ± 1.27 años (p 0.627). El grupo de DM1 incluyó 13 masculinos y 20 femeninos y el grupo control 9 masculinos y 17 femeninos (p 0.706). la antropometría tampoco mostró diferencias significativas. En el grupo de adolescentes sin DM1 se encontraron valores mayores de tensión arterial sistólica ($p < 0.001$) y triglicéridos ($p < 0.001$), comparados con adolescentes con DM1.

Tabla 1. *Características demográficas, metabólicas y clínicas de los participantes según el grupo de estudio.*

	DM1 (n=33)	Controles (n=26)	p
Edad (años)	13.18 \pm 1.66	13.02 \pm 1.27	0.627
Sexo (M/F)	13 / 20	9 / 17	0.706
Peso (Kg)	45.35 \pm 8.84	47.66 \pm 8.58	0.225
Talla (m)	1.51 \pm 0.10	1.55 \pm 0.09	0.151
IMC (kg/m ²)	19.13 \pm 3.63	19.71 \pm 2.24	0.398
TAS (mmHg)	91.01 \pm 12.03	99.9 \pm 7.69	<0.001
TAD (mmHg)	60.20 \pm 9.53	62.05 \pm 5.54	0.272
Glucosa (mg/dL)	216.50 (52-506)	85 (70-99)	<0.001
HbA1c	9.52 \pm 2.75	—	—
Colesterol total (mg/dL)	149.51 \pm 35.03	145.17 \pm 19.51	0.462
Triglicéridos (mg/dL)	74.26 \pm 33.64	88.27 \pm 20.17	0.028
C-HDL (mg/dL)	55.37 \pm 14.94	54.25 \pm 9.54	0.669
C-LDL (mg/dL)	80.04 \pm 29.45	76.73 \pm 16.92	0.519
ApoA (mg/dL)	122.09 \pm 20.42	126.5 \pm 15.17	0.339
ApoB (mg/dL)	53.36 \pm 19.68	46.34 \pm 11.77	0.061

Las características se expresan como medias o %.

Se observó una tendencia a mayor concentración de ApoB en pacientes con DM1 ($p=0.061$). En la tabla 2 se presentan las características de la composición de las LDL. Los pacientes con DM1 tuvieron partículas LDL con menor contenido de fosfolípidos ($p=0.008$), colesterol libre ($p=0.004$) y ésteres de colesterol ($p=0.003$), comparados con adolescentes sin DM1.

Tabla 2. *Composición de las partículas LDL.*

	DM1 (n=33)	Controles (n=26)	p
Proteína total (%)	27.06 ± 9.19	23.99 ± 6.11	0.023
Fosfolípidos (%)	20.64 ± 2.61	21.75 ± 2.76	0.008
Triglicéridos (%)	5.32 ± 1.56	5.33 ± 1.55	0.621
Esteres de colesterol (%)	37.68 ± 5.38	39.01 ± 3.34	0.003
Colesterol libre (%)	9.27 ± 1.28	9.91 ± 1.12	0.004
Tamaño de LDL (nm)	27.29 ± 0.91	27.59 ± 0.96	0.173

Las características se expresan como medias o %.

En cuanto a la oxidabilidad de las LDL, no se encontró diferencia significativa entre ambos grupos. La fase de latencia (min), la velocidad máxima (mm/seg), los dienos iniciales y finales no mostraron diferencias entre ambos grupos.

Tabla 3. *Susceptibilidad a la oxidación de LDL por método de Esterbauer et al.*

	DM1 (n=33)	Controles (n=26)	p
Fase de latencia (min)	61.39 ± 6.39	56.28 ± 7.97	0.239
Velocidad máxima (mm/seg)	16.61 ± 3.75	16.65 ± 4.01	0.962
Dienos iniciales ($\mu\text{mol/L}$)	154.05 ± 34.35	164.46 ± 37.67	0.262
Dienos finales ($\mu\text{mol/L}$)	509.21 ± 111.67	500.73 ± 106.57	0.769

Las características se expresan como medias.

15. DISCUSIÓN

Los pacientes con DM1 tienen un riesgo cardiovascular significativamente incrementado cuando se les compara con sujetos sanos. Múltiples causas se han propuesto, entre ellas, las anomalías lipídicas. Una de estas, el objeto de nuestro estudio, es que existe una mayor susceptibilidad a la oxidación de las partículas LDL en pacientes portadores de esta enfermedad.

A diferencia de los resultados obtenidos por Kara y colaboradores (9) y Jarvisalo y colaboradores (10) quienes demostraron por medio de ELISA una mayor concentración de partículas LDL oxidadas en pacientes diabéticos, en el presente estudio no encontramos diferencias en la susceptibilidad de las LDL a la oxidación en adolescentes con DM1 vs individuos sanos. Una de las posibles explicaciones para estas diferencias, es la metodología utilizada para medir las partículas LDL oxidadas.

Se obtuvieron resultados diferentes a lo reportado por Brito Gomes y colaboradores, quienes demostraron una oxidación más temprana de partículas LDL a la hora y a las 3 horas en pacientes con DM1 al compararlos con controles, esto no pudo reproducirse en nuestro estudio (12). Se debe considerar como causa de estas diferencias que el menor tamaño de la muestra en nuestro estudio.

En el presente estudio se observó una tendencia a mayor concentración de ApoB en pacientes con DM1 así como partículas LDL más pequeñas y densas. Este fenómeno fue observado por Guy y colaboradores en un estudio que comparó características lipídicas en pacientes sanos y con DM1 (15).

Los valores de tensión arterial sistólica fueron mayores y de significancia estadística ($p < 0.001$) en el grupo de pacientes sanos, contrario a lo esperado. Esto puede explicarse ya que la medición de la TAS de ambos grupos, si bien se realizó con misma técnica y equipo, ocurrió en lugares diferentes, en el medio hospitalario para el grupo 1 y en la escuela de procedencia en el grupo 2.

ApoB-100 representa el 95% de las proteínas contenidas en las LDL. Se han identificado más de 50 proteínas adicionales que forman parte de las LDL o pueden asociarse de manera temporal a estas. Entre sus funciones se han identificado la regulación del metabolismo de apoB y

transporte de lípidos. Se ha propuesto también su papel en la inflamación, trombosis, inmunidad innata y función antimicrobiana. Faltan estudios que permitan interpretar el significado del mayor contenido de proteínas en las LDL en el presente estudio, sin embargo consideramos que representa un área de oportunidad para realizar investigación en diabetes.

16. CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados reportados en este estudio, la susceptibilidad de las partículas LDL a la oxidación es similar en adolescentes sanos y en aquellos con DM1.

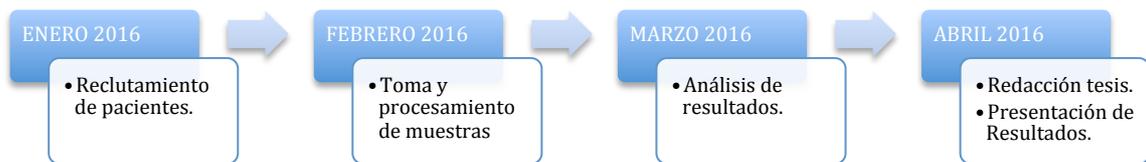
Se encontraron diferencias entre ambos grupos en cuanto a la composición de las partículas LDL, siendo en los pacientes con DM1 más pequeñas y densas. La información acerca de la composición de las partículas LDL y su posible relación con el riesgo cardiovascular es escasa, por lo que deben realizarse estudios en busca de esta asociación.

La principal causa de muerte en pacientes con DM1 es la enfermedad cardiovascular. Por tal motivo será de gran valor realizar ensayos que permitan obtener un mayor conocimiento sobre la fisiopatología de la aterosclerosis en este grupo de pacientes con el fin de crear estrategias de prevención y manejo encaminadas a disminuir la mortalidad secundaria a esta complicación macrovascular.

17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Al ser un estudio transversal no es posible con los resultados obtenidos establecer una relación causal entre padecer DM1 y presentar alteraciones en la oxidación y composición de las LDL. Únicamente permite establecer prevalencia y no incidencia. El tamaño de la muestra es pequeño, lo cual debe considerarse también como una limitación.

18. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES



19. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014; 15 (Suppl. 20): 4–17.
2. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 Diabetes Mellitus: Etiology, Presentation, and Management. *Pediatr Clin N Am* 52 (2005) 1553–1578.
3. International Diabetes F. IDF Diabetes Atlas. 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes F, 2013.
4. Gan MJ, O’Neil AA, Haller MJ. Type 1 Diabetes: Current Concepts in Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Care, and Research. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2012;42:269-291
5. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA, Wong TY, Chiarelli F, Marcovecchio ML, et al. Microvascular and Macrovascular Complications in Children and Adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014; 15 (Suppl. 20): 257–269.
6. Vergès B, Lipid Disorders in Type 1 Diabetes. *Diabetes & Metabolism* 35 (2009) 353–360.
7. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
8. Nathan, DM, The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care* 2014;37:9–16.
9. Kara C, Cxetinkaya S, Sezgin N, Kınık ST. The effects of metabolic control on oxidized low-density lipoprotein antibodies in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes* 2008; 9: 17–22.
10. Jarvisalo MJ, Lehtimäki T, Raitakari O. Determinants of Arterial Nitrate-Mediated Dilatation in Children. Role of Oxidized Low-Density Lipoprotein, Endothelial Function, and Carotid Intima-Media Thickness. *Circulation*. 2004;109:2885-2889.
11. Cui Y, Narasimhulu CA, Liu L, Zhang O, Liu P, Li X et. al. N-acetylcysteine inhibits *in vivo* oxidation of native low-density lipoprotein. *Scientific Reports*. **5**, 16339; doi: 10.1038/srep16339 (2015).
12. Brito Gomes M, Arnold Cobas R, Nunes E, Castro-Faria-Neto H, Bevilacqua de Matta

- MF, Nevea R et al. Plasma PAF-acetylhydrolase Activity, Inflammatory Markers and Susceptibility of LDL to in Vitro Oxidation in Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 85 (2009) 61–68 .
13. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous Monitoring of *In Vitro* Oxidation of Human Low Density Lipoprotein. *Free Radical Research Communications*. Vol 6, No. 1, 67-75 (1989).
 14. Posadas-Romero C, Posadas-Sánchez R, Juárez-Rojas JG, Medina-Urrutia A, Jorge-Galarza E, Cardoso-Saldaña G et. al. Alteraciones de las Lipoproteínas de Alta y Baja Densidad en Pacientes Coronarios con C-LDL en Meta pero C-HDL y Triglicéridos anormales. *Archivos de Cardiología en México* Vol. 78 Número 1/Enero-Marzo 2008:30-39.
 15. Guy J, Ogden L, Wadwa RP, Hamman RF, Mayer-Davis EJ, Liese AD, et al. Lipid and Lipoprotein Profiles in Youth with an without Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 32:416-420, 2009.
 16. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Human Kinetics Books. Champaign III: 1998.
 17. National High Blood Pressure Education Program Working Group on Hypertension Control in Children and Adolescents. Update on the 1987 Task Force report on High Blood Pressure in Children and Adolescents: A working Group Report from the National High Blood Pressure Education Program. *Pediatrics* 1996; 98 (4):649-658.