



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado

**Centro Médico Nacional 20 de Noviembre**

**ISSSTE**

COMPORTAMIENTO DE LA AGREGACIÓN  
PLAQUETARIA EN NIÑOS CON DIABETES  
MELLITUS TIPO 1 COMPENSADA

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE  
SUBESPECIALISTA EN MEDICINA

**HEMATOLOGÍA PEDIATRÍA**

PRESENTA

**DRA. JANETH DIMELSA REALPE DÍAZ**

DIRECTOR DE TESIS

**DRA. MARÍA RAQUEL MIRANDA MADRAZO**

Agosto 2017



CD.MX.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

Este trabajo de Tesis, presentado por la estudiante Janeth Dimelsa Realpe Díaz se presenta con visto bueno del el Investigador Responsable de la Tesis la Dra. María Raquel Miranda Madrazo y la Coordinación de Pediatría a cargo de la Dra. Sonia Gutiérrez con fecha Agosto de 2017 para su impresión final.

**Dra. Laura Merino Pasaye**

Profesor Titular de Hematología Pediátrica  
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre

**Dra. María Raquel Miranda Madrazo**

Médico Adscrito al servicio de Hematología Pediátrica, de la Coordinación de Pediatría del  
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre

## **AUTORIZACIONES**

**Dr. Mora Pérez Josué**

Director de Enseñanza e Investigación  
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre

---

**Dra. Laura Merino Pasaye**

Profesor Titular Hematología Pediátrica  
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre

---

**Dra. María Raquel Miranda Madrazo**

Médico Adscrito al servicio de Hematología Pediátrica  
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre

---

**COMPORTAMIENTO DE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN NIÑOS CON  
DIABETES MELLITUS TIPO 1 COMPENSADA**

**COLABORADORES:**

Investigador responsable: **Dra. María Raquel Miranda Madrazo**

Firma: \_\_\_\_\_

Investigador Principal: **Dra. Janeth Dimelsa Realpe Díaz**

Firma: \_\_\_\_\_

Investigador asociado: **Dra. María Fernanda Acosta**

Firma: \_\_\_\_\_

Investigador asociado: **Dr. Byron Alexis Pacheco Mendoza**

Firma: \_\_\_\_\_

## **RESUMEN.**

### **INTRODUCCIÓN.**

En 1971 Kwaan HC y cols; fueron los primeros en describir el incremento de la agregación plaquetaria en diabetes mellitus (DM). Eventos vasculares agudos, tales como infarto agudo de miocardio (IAM) y eventos vasculares cerebrales (EVC), son secundarios a eventos aterotrombóticos que gradualmente progresan a estenosis del lumen por una placa aterotrombótica. De acuerdo a estudios observacionales previos, conocemos que la agregación plaquetaria en diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) se encuentra incrementada favoreciendo el desarrollo de complicaciones; sin embargo de acuerdo a nuestro conocimiento, no encontramos en la literatura mundial estudios realizados en niños que determinen la agregación plaquetaria en sujetos con DMID compensada (nivel de HbA1c <7.5%).

**PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:** *¿Cuál es el comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada?*

**OBJETIVO:** Conocer el comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Diseño transversal analítico, se realizará en el Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE, en sujetos con diagnóstico de DMID. Se estudiarán los niños divididos en grupos de DMID compensada (HbA1c <7.5%) y descompensada (HbA1c >7.5%). La variable de desenlace principal es el porcentaje de agregación plaquetaria. Se realizará análisis univariado y bivariado, con valor de significancia estadística con  $p < 0.05$ , utilizando como medida de asociación la razón de momios.

**RESULTADOS:** La mediana de edad fue de 14.4 años (8.1-17.2), el tiempo de evolución tuvo una mediana de 4 años (0.5-16). En cuanto al género la DMID fue más frecuente en hombres 13 (68.4%) y fue en ellos donde se encontró dos sujetos con DMID compensada (10.1%). El tipo de insulina más usada fue los análogos de insulina de acción prolongada + análogo de insulina de acción ultrarápida en 16 sujetos (84.2%).

**CONCLUSIÓN:** La DMID compensada es solo el 10.1% de nuestro grupo de estudio. La DMID compensada se presentó en hombres con tiempo de evolución menor a 4 años.

**PALABRAS CLAVES:** Diabetes mellitus insulino dependiente (DMID), agregación plaquetaria.

## **ABSTRACT.**

### **INTRODUCTION.**

In 1971, Kwaan HC et al; were the first to report the increase in platelet aggregation in diabetes mellitus (DM). Acute vascular events, such as acute myocardial infarction (AMI) and cerebrovascular events (CVE), are secondary to atherothrombotic events that gradually progress to lumen stenosis by an atherothrombotic plaque. According to previous observational studies, we know that platelet aggregation in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is increased favoring the development of complications; However, according to our knowledge, we did not find in the world literature studies in children that determine platelet aggregation in subjects with compensated DMID (HbA1c level <7.5%).

**RESEARCH QUESTION:** What is the behavior of platelet aggregation in children with compensated type 1 diabetes mellitus?

**OBJECTIVE:** To know the behavior of platelet aggregation in children with type 1 diabetes mellitus.

**MATERIAL AND METHODS:** Cross-sectional analytical design will be performed at the Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE, in subjects with IDDM diagnosis. Children divided into groups of compensated DMID (HbA1c <7.5%) and decompensated (HbA1c > 7.5%) were studied. The main outcome variable is the percentage of platelet aggregation. Univariate and bivariate analysis will be performed, with statistically significant value with  $p < 0.05$ , using as a measure of association the odds ratios.

**RESULTS:** The median age was 14.4 years (8.1-17.2); the evolution time was a median of 4 years (0.5-16). The IDDM was more frequent in men 13 (68.4%) and it was in them that two subjects with compensated IDDM (10.1%) were found. The type of insulin most used was the long-acting insulin analogues + fast acting insulin analogue in 16 subjects (84.2%).

**CONCLUSION:** The compensated DMID is only 10.1% of our study group. The compensated DMID was presented in men with evolution time less than 4 years.

**KEYWORDS:** Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM), platelet aggregation.

## 1. ÍNDICE.

Carátula y Título del proyecto	1
Firmas de autorización	2
Agradecimientos	6
Resumen y abstract	8
Abreviaturas	11
Antecedentes	12
Planteamiento del problema	21
Justificación	21
Hipótesis	21
Objetivo General	22
Objetivos específicos	22
Metodología de la Investigación	22
Aspectos éticos	26
Conflictos de intereses	28
Condiciones de bioseguridad	28
Resultados	29
Discusión	29
Referencias bibliográficas	31
Tablas	33
Anexos	34

## **2. ABREVIATURAS**

DM: Diabetes mellitus.

DMID: Diabetes mellitus insulino dependiente.

FvW: Factor de Von Willebrand.

PRP: Plasma rico en plaquetas.

PPP: Plasma pobre en plaquetas.

ISPAD: International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

ADP: Adenosin Difosfato.

EVC: Eventos vasculo-cerebrales.

RPM: Revoluciones por minuto.

### 3. ANTECEDENTES.

#### 3.1. Agregometría.

Las plaquetas son células sanguíneas que tienen un papel central en la hemostasia normal, en la trombosis, en varios trastornos hemorrágicos y en algunos eventos tromboticos hereditarios o adquiridos. Es, por lo tanto, indispensable la comprensión y el estudio minucioso de la función plaquetaria para identificar los diferentes grados y tipos de disfunción o hiperfunción de las plaquetas y para la vigilancia de la efectividad de los tratamientos antiplaquetarios modernos.<sup>1</sup>

Uno de los principales problemas en el estudio de la función plaquetaria es la dificultad para simular la hemostasia *in vitro* ya que las plaquetas son sensibles a la manipulación y se activan de manera artificial en los tubos de vidrio. La mejor comprensión de la fisiología de la hemostasia y la coagulación facilitó el desarrollo de un método de medición objetiva y de mayor exactitud de la función de las plaquetas: la agregometría plaquetaria.<sup>6</sup>

Las plaquetas participan en la hemostasia y la trombosis por adherencia al endotelio vascular dañado. Su interacción con el ambiente y con otras plaquetas representa procesos complejos que se inician en la superficie de la membrana plaquetaria, por lo que ésta proporciona una interfase reactiva entre las plaquetas y su medio externo mediante receptores en la superficie, decisivos en la transducción de señales y los estímulos externos al interior de la plaqueta.<sup>7</sup>

La activación plaquetaria se lleva a cabo mediante la interacción entre los diferentes receptores de membrana y un gran número de moléculas pequeñas, enzimas y complejos proteicos macromoleculares que inducen contracción del citoesqueleto de la plaqueta. El cambio en su forma discoide a la forma esférica con extensiones (pseudópodos) que facilitan la adhesión con el endotelio y entre otras células, la interacción con otras plaquetas y liberación del contenido de sus gránulos.<sup>7</sup> Son varios los estímulos responsables de la secuencia de eventos que conducen a la activación plaquetaria e incluyen: trombina, tripsina, colágena, ADP, epinefrina, metabolitos del ácido araquidónico, factor activador de plaquetas y epinefrina.

La hemostasia primaria es el proceso inicial de la coagulación y tiene el objeto de crear un tapón plaquetario en respuesta al daño del endotelio vascular y consiste en cuatro fases: adhesión, activación, secreción y agregación plaquetaria. En condiciones normales, las plaquetas no tienen contacto con la matriz de tejido conectivo del subendotelio vascular. Cuando se rompe la integridad endotelial, se exponen fibras de colágena, FvW y otras proteínas de la matriz subendotelial,<sup>8</sup> y es la interacción de las plaquetas con estas sustancias la que proporciona la superficie para la adhesión plaquetaria y sirve como un fuerte estímulo para la activación de las plaquetas.

La medición de la agregación de las plaquetas o agregometría plaquetaria fue descrita en 1962 por Born<sup>6</sup> como una técnica para estimar la cinética de la agregación de las plaquetas por medio de turbidimetría (medición de la turbidez o densidad óptica). El método se convirtió de manera rápida en el patrón de referencia para el estudio de la función plaquetaria. En la actualidad existen dos métodos diferentes para el estudio de la agregación plaquetaria: el método óptico original con plasma rico en plaquetas (PRP) y el método de impedancia con sangre completa.

La agregación de plasma rico en plaquetas por método óptico, mide en tiempo real la agregación de las plaquetas en una muestra de PRP mediante aclaramiento óptico. Esta prueba requiere un agregómetro (espectrofotómetro) en el que se deposita la muestra de PRP en un recipiente o cubeta de incubación a 37°C, que se encuentra entre una fuente de luz y una fotocelda de medición que calcula la densidad óptica o turbidez del PRP. La preparación del PRP requiere la separación de los eritrocitos y leucocitos del plasma y las plaquetas en una muestra de sangre completa, mediante centrifugación lenta (1000 rpm) durante 15 minutos. También se requiere la preparación de una muestra de plasma pobre en plaquetas (PPP), que se obtiene por centrifugación rápida (3000 rpm). La calibración de la transmisión de la luz a través del PPP (plasma claro) se ajusta al 100%; la transmisión de luz a través del PRP (plasma turbio u opaco) entonces se ajusta a 0%.<sup>9</sup> (Figura 1)

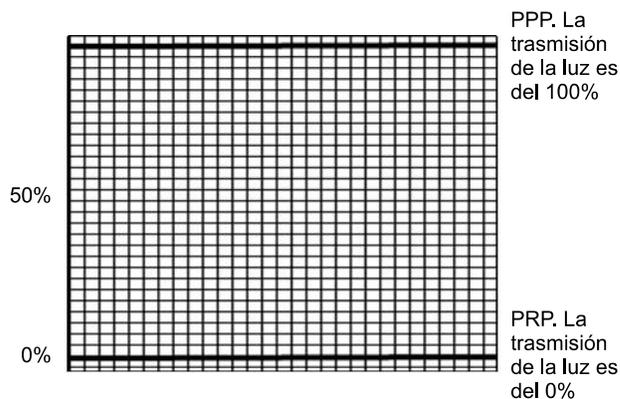


Fig 1. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

Después, se agrega una de varias sustancias conocidas por su efecto agonista sobre las plaquetas, con la finalidad de inducir agregación de las plaquetas y simular *in vitro* lo que sucede *in vivo*. En un estudio de rutina se incluyen: epinefrina, ADP, colágena, ácido araquidónico, trombina y ristocetina (un antibiótico que estimula la agregación por aumento de la unión de FvW a la GP Ib). Mientras se realiza este proceso, la luz pasa a través de la cubeta con 100% el PRP y se captura por el detector o fotocelda en el lado opuesto. Conforme las plaquetas se agregan en respuesta al agonista, el PRP se aclara y se transmite mayor cantidad de luz. La transmisión de la luz se mide en tiempo real y se grafica el porcentaje del aclaramiento de la muestra; a mayor agregación plaquetaria, mayor transmisión de la luz y viceversa.<sup>9</sup> (Figura 2)

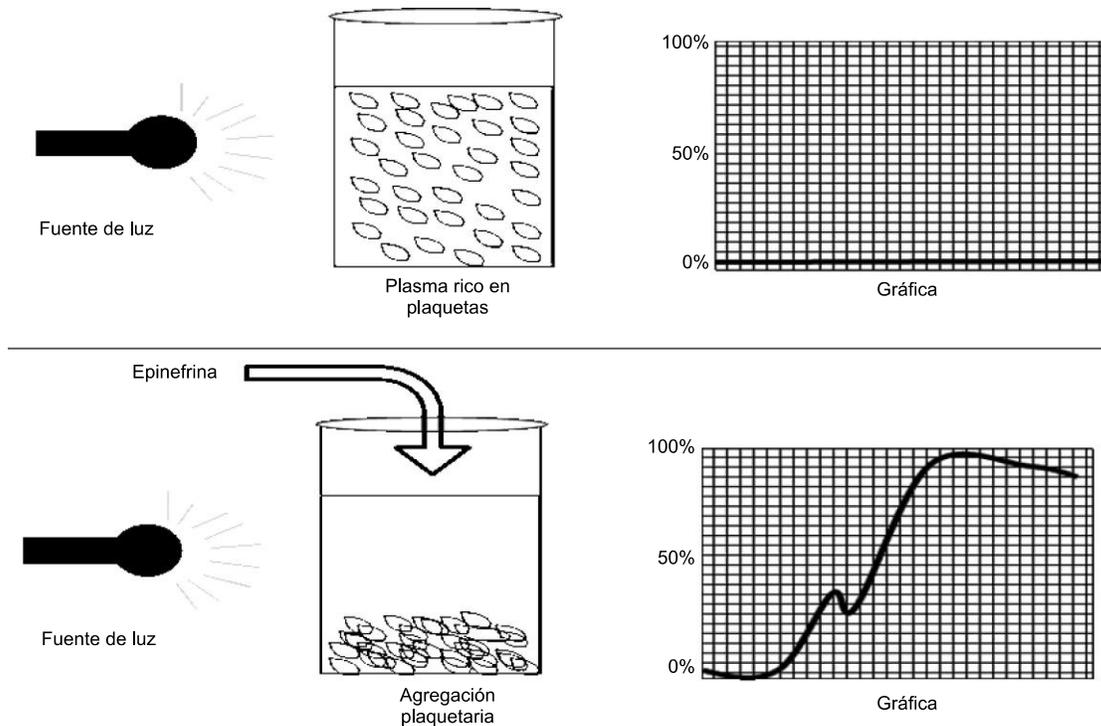


Fig 2. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

Su graficación genera una curva de la agregación plaquetaria en porcentaje y tiempo. Se debe estudiar un agente agregante (agonista) a la vez. Los agonistas que comúnmente se utilizan son ADP, epinefrina, colágena y ristocetina. La curva típica de la agregación plaquetaria tiene cinco fases distintas con dos curvas: (Figura 3)<sup>9, 10</sup>

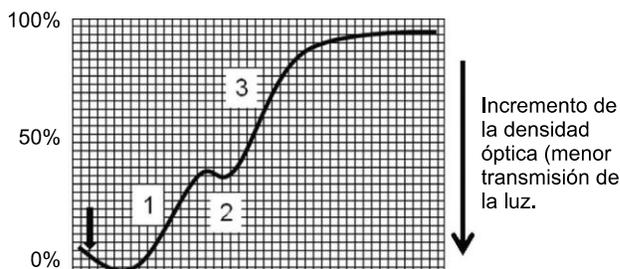


Fig 3. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

1. Incremento inicial de la transmisión de la luz atribuible a dilución del PRP por el agonista que añade.
2. Discreta disminución de la transmisión conforme las plaquetas cambian de forma.
3. Incremento agudo inicial de la transmisión conforme las plaquetas se agregan (agregación primaria).

4. Meseta breve o disminución de la agregación.
5. Agregación secundaria que se estimula por la secreción de los gránulos plaquetarios.
6. En la mayoría de los individuos esta respuesta bifásica se observa con concentraciones bajas de ADP y epinefrina. Las curvas que se generan con otros agonistas (colágena, ristocetina) son típicamente unimodales con una sola curva. (Figura 4)

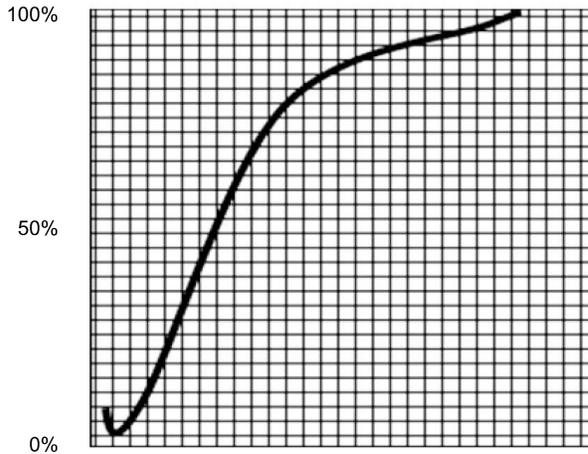


Fig 4. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

Este método tiene varias limitaciones inherentes; consume tiempo, es laborioso y complejo, por lo que se requiere un equipo humano bien adiestrado y con experiencia en la realización de la técnica. La interpretación de los resultados también requiere experiencia y conocimiento de la técnica y fisiología y fisiopatología de la hemostasia y la coagulación. La muestra debe obtenerse por punción venosa directa y se colecta en tubos con anticoagulante a base de citrato (tubos para tiempos de coagulación con tapón de color lila). La prueba se debe realizar en las tres horas después de obtener la muestra. La centrifugación puede dañar o activar las plaquetas y no se debe realizar en muestras hemolisadas, lipémicas o con contaminación por eritrocitos.<sup>11, 12</sup>

La agregometría en PRP es sensible a la cifra de plaquetas. Como en otros estudios de la función plaquetaria, la trombocitopenia menor de  $100 \times 10^9/L$  o la trombocitosis mayor de  $400 \times 10^9/L$  pueden alterar los resultados y se debe tener en cuenta para su interpretación. En el caso de la cifra de plaquetas  $> 400 \times 10^9/L$  se recomienda diluir la muestra con PPP (aproximadamente a  $200 \times 10^9/L$ ).<sup>11</sup>

Los valores normales de la agregación plaquetaria con los diferentes agonistas se describen en el Cuadro 1 y los patrones normales de las curvas con cada agonista de manera individual se muestran en la Figura 5.

**Cuadro 1.** Valores normales de agregación plaquetaria según cada agonista

Agonista	Concentración	Agregación (%)
ADP	5 $\mu$ M	68-88
	10 $\mu$ M	71-88
Acido araquidónico	0.5 mM	74-99
Colágena	2 $\mu$ g/mL	70-94
Epinefrina	5 $\mu$ M	78-88
Ristocetina	1.25 mg/mL	87-102

Cuadro 1. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

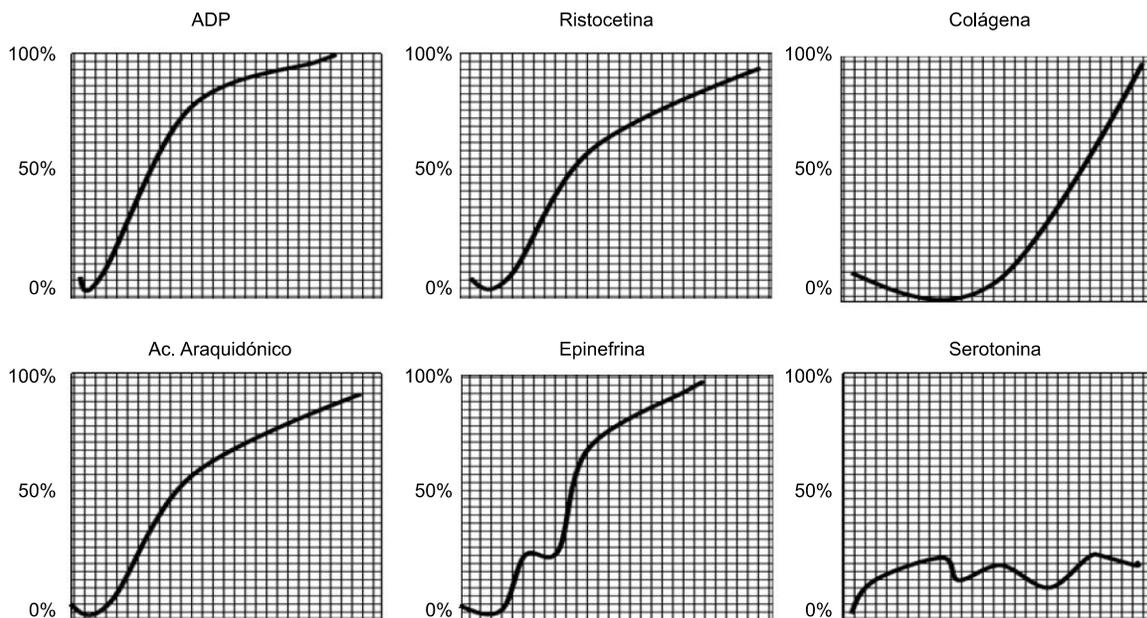


Fig 5. Tomado de Córdova V y cols. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.<sup>1</sup>

### 3.2. Diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas que se caracteriza por una hiperglucemia crónica, que aparece como resultado de alteraciones en la secreción de insulina, en su acción o en ambas. Como consecuencia de esa acción defectuosa de la insulina sobre los órganos diana se producen alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono de las grasas y de las proteínas.<sup>2</sup>

Los criterios diagnósticos para la DM se basan en la medición de la glucemia y en la presencia o ausencia de síntomas.<sup>13,14</sup> En la tabla 1 se resumen los criterios para el diagnóstico de DM tipo 1.<sup>2</sup>

## Tabla I

### *Criterios para el diagnóstico de diabetes mellitus*

1. Síntomas de diabetes junto a hallazgo casual de glucemia = 11,1 mmol/l (200 mg/dl)\*. Se define casual como cualquier momento del día con independencia del tiempo transcurrido desde la última comida.
2. Glucemia plasmática en ayunas = 7,0 mmol/l (= 126 mg/dl)\*\*. Se define ayunas como ausencia de ingesta calórica durante al menos 8 horas.
3. En la sobrecarga oral de glucosa glucemia a las 2 horas = 11,1 mmol/l (= 200 mg/dl). La prueba debería realizarse usando una sobrecarga del equivalente a 75 g de glucosa anhidra diluida en agua o 1,75 g/kg de peso hasta un máximo de 75 g.

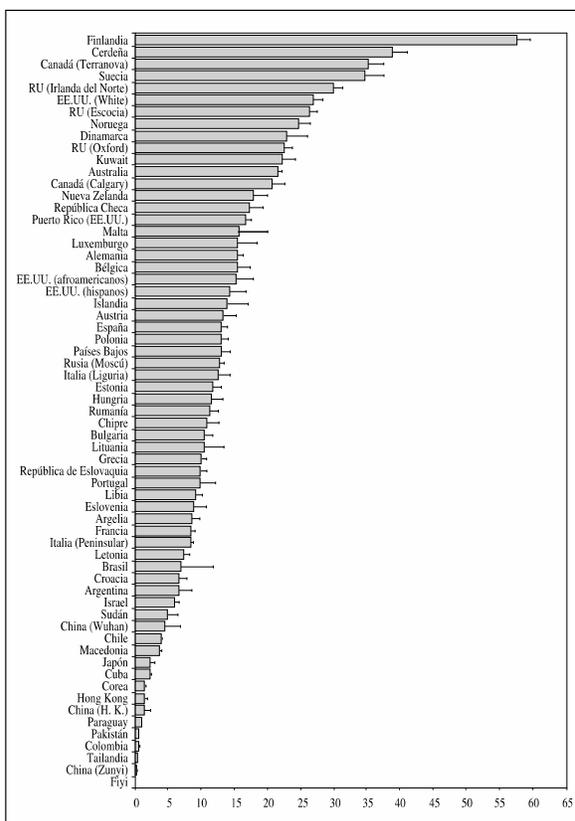
\*Los valores correspondientes (mmol/l) son 10,0 para sangre venosa y 11,1 para sangre capilar. Son síntomas: poliuria, polidipsia, visión borrosa, pérdida de peso junto con glucosuria y cetonuria.

\*\* = 6,3 para sangre venosa o capilar.

Tomado de Moreno J. Diabetes mellitus tipo 1 en niños y adolescentes. *Nutr Hosp Suplementos* 2010;3:14-22. <sup>2</sup>

El 90% de la diabetes en niños y adolescentes corresponde a la DM tipo 1; sin embargo, menos de la mitad de los diabéticos tipo 1 se diagnostican antes de los 15 años. <sup>2</sup>

Existe una gran variabilidad en la incidencia entre países y poblaciones de distinto origen étnico, llegando a variar entre el 0.1% y el 57.6%/100.000 (Figura 1). <sup>15, 16</sup>



Tomado de Craing ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009;10(Supl.12):3-12. <sup>9 2</sup>

La DM en niños, para considerarse compensada, requiere un nivel de HbA1c menor de 7.5% de acuerdo a la “International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes” (ISPAD). <sup>17</sup> El valor de HbA1c elevada, por encima de éste valor, conllevaría a un incremento de la incidencia de complicaciones clínicas, especialmente las microvasculares; cada reducción del 1% de la HbA1c se asoció a disminución del 21% de riesgo para cualquier problema de diabetes, 21% para muertes relacionadas con diabetes, 14 % para infarto agudo de miocardio (IAM) y 37% para complicaciones microvasculares; <sup>18, 19</sup> por esto es prioritario mantener un adecuado control de la DM para evitar complicaciones que incrementan la morbilidad y mortalidad.

### 3.3. Asociación entre agregometría y diabetes mellitus no insulino dependiente.

En 1971, de acuerdo a nuestro conocimiento, Kwaan HC y cols; fueron los primeros en describir el incremento de la agregación plaquetaria en DM. <sup>3</sup> Entre 1977 y 1983 se publicó acerca de una interacción anormal entre las plaquetas y la pared de los vasos sanguíneos que contribuye a la microangiopatía en la DM tipo 1. <sup>4</sup>

En 1983 Colwell J, y cols; describió en 5 puntos como la función plaquetaria y endotelial pueden contribuir en alguna vía a la enfermedad vascular diabética: <sup>5</sup>

- 1) Función plaquetaria alterada antes de la aparición de enfermedad vascular en diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID). Tales anomalías pueden incluir: a) incremento de la sensibilidad de las plaquetas para agregar materiales in vitro, b) interacciones plasma-plaquetas, c) incremento de la producción plaquetaria de prostaglandinas proagregatorias y metabolitos, d) incremento en los niveles de plasma de una proteína plaqueta-específica (b-tromboglobulina), y e) disminución in vivo de la sobrevivencia de plaquetas.
- 2) Función alterada en DMID no complicada. Esto puede incluir: a) producción disminuida de la prostaglandina antiagregatoria (prostaciclina- $PGI_2$ ), b) incremento de los niveles plasmáticos de proteína endotelial, factor de von Willebrand, c) fibrinólisis disminuida debido a liberación disminuida de activador de plasminógeno por el endotelio.
- 3) Mejoría en la función endotelial y/o plaquetaria alterada con insulina en diabetes. Esto implicaría que el defecto está relacionado a un estado diabético insulino-deficiente.
- 4) Detección de microtrombos plaquetarios en diabetes experimental.
- 5) Tasa disminuida de progresión de enfermedad vascular diabética con el uso de agentes antiplaquetarios en ensayos clínicos aleatorizados.

En 1989 Kobba A, and Tuvemo U; describieron la agregación plaquetaria en los primeros dos años de la DMID en niños. <sup>4</sup> Realizaron un diseño de cohorte prospectiva, donde incluyeron 30 niños de Suecia con DMID, con una media de edad de 9.3 años (3-15), 19 mujeres y 11 hombres (casos); 44 niños sanos, con una media de edad de 11.5 años (4-16); 27 mujeres y 17 hombres (controles). Se les tomó muestra para realizar agregometría antes de la primera aplicación de insulina, luego cada 6, 12 y 24 meses. Ellos usaron para agregación plaquetaria colágeno, adenosin difosfato (ADP) y ácido araquidónico.

La variable de desenlace principal de este estudio fue medir la agregación plaquetaria (3 min) y la velocidad de agregación; e intentar correlacionarla con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas, grasas e iones.

En la agregometría (3 min) realizada con colágeno 0.5-1 mg/l fue baja en el momento del diagnóstico en niños con DMID en comparación con los controles, con una  $p < 0.05$ ; la velocidad de agregación después de la adición de colágeno 5.5 mg/l fue baja en los niños con DMID en comparación con el grupo control al inicio de la enfermedad con una  $p < 0.01$ ; pero no fue diferente a largo plazo.

La agregometría (3 min) realizada con ADP no tuvo diferencias entre los DMID y los controles; la velocidad de agregación a 1.1  $\mu\text{mol/l}$  hubo una onda alta en el grupo de DMID comparado con el control, con valor de  $p < 0.05$ .

Finalmente la agregometría efectuada con ácido araquidónico a 0.25 mmol/l, tienen una respuesta incrementada de las plaquetas en la agregometría (3 min) y una velocidad de agregación incrementada en el grupo con DMID (25%) en comparación con el grupo control (10%), con un valor de  $p < 0.01$  y  $< 0.05$  respectivamente.

En dicho estudio además se midió la agregación plaquetaria longitudinalmente (0, 6, 12, 24 meses) solo en el grupo de DMID, tanto agregometría (3 min) como velocidad de agregación. Tanto con colágeno, ADP y ácido araquidónico no hubo

diferencias estadísticas en la agregometría (3 min) realizadas al 0, 6, 12 y 24 meses. En tanto que en la velocidad de agregación con colágeno incremento desde la admisión hasta los 24 meses con un valor de  $p < 0.001$ ; con ADP incrementó al inicio y a los 6 meses pero disminuyó gradualmente hasta los 24 meses; y con ácido araquidónico disminuyó desde la admisión hasta los 24 meses con una  $p < 0.05$ .

Además, se planteó en dicho estudio intentar correlacionar la agregación plaquetaria con las alteraciones en carbohidratos, proteínas, lípidos e iones; encontrando correlación negativa en todas ellas.

El flujo sanguíneo normal y trombo-resistencia es dependiente de la vasomotilidad, elementos sanguíneos, componentes del plasma y su interacción con la superficie endotelial. La ruptura de una placa aterosclerótica expone material subendotelial que promueve la activación plaquetaria y el inicio local de la cascada de la coagulación que puede liderar la formación de trombos en el sitio de la disrupción endotelial. Eventos vasculares agudos, tales como IAM y eventos vasculares cerebrales (EVC), son secundarios a eventos aterotrombóticos que gradualmente progresan a estenosis del lumen por una placa aterotrombótica.<sup>20</sup>

Los pacientes con DM no solo tienen una gran placa ateromatosa, también tienen una diátesis hemorrágica que es en parte debido a los cambios en el sistema de coagulación con incremento de los niveles de fibrinógeno en plasma, generación de trombina intravascular incrementada y potencial fibrinolítico reducido.<sup>21, 22</sup>

Las plaquetas en los pacientes con DM tienen una hiperreactividad plaquetaria. La activación plaquetaria contribuye a la patología por no ser solamente un desencadenante de formación de trombos sino también causando embolización microcapilar y liberación de constricción, oxidación y liberación de sustancias mitogénicas que aceleran la progresión de lesiones vasculares locales.<sup>20</sup>

De acuerdo a todos los estudios observacionales previamente comentados, conocemos que la agregación plaquetaria en DMID se encuentra incrementada favoreciendo el desarrollo de complicaciones; sin embargo, de acuerdo a nuestro conocimiento, no encontramos en la literatura mundial estudios realizados en niños que comparen la agregación plaquetaria en sujetos con DMID compensada (nivel de HbA1c  $< 7.5\%$ ) comparados con los descompensados (HbA1c  $> 7.5\%$ ), que permita conocer si este incremento en la agregación plaquetaria es debido al diagnóstico de DMID por sí mismo o depende de su estado de compensación.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Las alteraciones plaquetarias que se presentan en sujetos con DMID han sido blanco de investigaciones previas a nivel mundial, sin tener hasta la actualidad definido si realmente dichas alteraciones están presentes en los sujetos con DMID

por el solo hecho de tener el diagnóstico, o si depende de su estado de control metabólico. Conocer esto nos permitirá a futuro saber si existe un incremento en el desarrollo de vasculopatía diabética por aumento de la agregación plaquetaria, que conlleve al desencadenamiento precoz de enfermedad ateromatosa que condicione a su vez morbilidad y mortalidad temprana.

Por este motivo planteamos la siguiente pregunta de investigación.

*¿Cuál es el comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada?*

## **5. JUSTIFICACIÓN.**

Desde hace décadas se han hecho esfuerzos para demostrar la asociación entre agregación plaquetaria y DMID, pero hasta la actualidad no se ha medido el valor de la agregación plaquetaria en sujetos con DMID compensados y descompensados (basados en el nivel de HbA1c); por este motivo no tenemos resultados concluyentes de dicha asociación que nos permita tomar sus datos como algún factor pronóstico de morbilidad o mortalidad a corto, mediano o largo plazo.

En México, de acuerdo a nuestro conocimiento, no existen estudios sobre este tema; por lo que consideramos prudente realizar una investigación inicial que nos permita conocer si el comportamiento de la agregación plaquetaria es similar en sujetos con DMID compensados y descompensados, para a futuro poder plantear un trabajo a gran escala que nos conlleve a conclusiones fidedignas en este tema.

## **6. HIPÓTESIS.**

Desde hace décadas se han hecho esfuerzos para demostrar la asociación entre agregación plaquetaria y DMID, pero hasta la actualidad no se ha medido el valor de la agregación plaquetaria en sujetos con DMID compensados y descompensados (basados en el nivel de HbA1c); por este motivo no tenemos resultados concluyentes de dicha asociación que nos permita tomar sus datos como algún factor pronóstico de morbilidad o mortalidad a corto, mediano o largo plazo.

En México, de acuerdo a nuestro conocimiento, no existen estudios sobre este tema; por lo que consideramos prudente realizar una investigación inicial que nos permita conocer si el comportamiento de la agregación plaquetaria es similar en sujetos con DMID compensados y descompensados, para a futuro poder plantear un trabajo a gran escala que nos conlleve a conclusiones fidedignas en este tema.

## **7. OBJETIVOS.**

### **7.1. Objetivo general.**

Conocer el comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada.

## **7.2. Objetivos específicos.**

- Medir la agregación plaquetaria a través de espectrofotometría.
- Comparar los valores obtenidos de pacientes con DMID compensados respecto a los descompensados.
- Describir el perfil de la población de estudio

## **8. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.**

### **8.1. Diseño y tipo de estudio.**

Por intervención: Observacional.

Diseño: Transversal analítico.

Direccionalidad: Al ser un estudio transversal la recopilación de la información de la exposición y resultado se realizará de manera simultánea.

### **8.2. Población de estudio.**

Pacientes atendidos en el servicio de endocrinología pediátrica del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE con diagnóstico de DMID.

### **8.3. Universo de trabajo.**

Niños atendidos en el servicio de Endocrinología pediátrica del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE.

### **8.4. Tiempo de ejecución.**

Un año.

### **8.5. Definición de grupo control.**

-Niños con diagnóstico de DMID descompensada (con niveles de HbA1c > 7.5%)

### **8.6. Definición de grupo a intervenir.**

-Niños con diagnóstico de DMID compensada (con niveles de HbA1C < 7.5%.)

### **8.7. Criterios de inclusión.**

Pacientes a cargo del Servicio de Endocrinología Pediátrica con diagnóstico de DMID 1 con los siguientes características:

- Menores de 18 años.
- Género masculino o femenino.
- Con control de HbA1C
- Con la Carta de Consentimiento informado firmada por padre/madre o tutor y testigos.

En caso de niños mayores de 7 años, con carta de asentimiento informado.

### **8.8. Criterios de exclusión.**

- Pacientes en manejo con anti-agregantes plaquetarios.
- Niños con diagnóstico de DMID y niveles de plaquetas <  $100 \times 10^9/L$  o >  $400 \times 10^9/L$ .

### **8.9. Criterios de eliminación.**

-Padre/madre o tutor legal que soliciten retirarse de la investigación.

### **8.10. Tipo de Muestreo**

Muestreo no probabilístico por conveniencia.

### **8.11. Metodología para el cálculo del tamaño de la muestra.**

De acuerdo al estudio realizado en Suecia por 1989 Kobbah A, and Tuvemo U existe un incremento en la agregación plaquetaria en un 15% con con ácido araquidónico a 0.25 mmol/l en los diabéticos comparados con un grupo control.

Se estima que con una agregación plaquetaria de 25% (con ácido araquidónico a 0.25 mmol/l) para el grupo de DMID descompensado contra 10% del grupo de DMID compensado, con un nivel de significancia estadística alfa del 0.05 y un poder estadístico de 0.80; más un 10% de posibles pérdidas, aplicando la fórmula de cálculo de tamaño de muestra comparando dos proporciones en dos grupos independientes obtuvimos un total de 97 sujetos por grupo.

De acuerdo a datos obtenidos del área de endocrinología pediátrica en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” tenemos aproximadamente 30 sujetos con DMID. Por este motivo incluiremos en el estudio la mayor parte de sujetos que cumpla los criterios de selección y de acuerdo al número de niños incluidos calcularemos el poder de la investigación.

### 8.12. Operacionalización de las variables.

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL
<b>Independiente</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>DMID compensada</li> </ul>	Nominal	-Si -No	Sujetos con DMID con HbA1C < 7.5%
<ul style="list-style-type: none"> <li>DMID descompensada</li> </ul>	Nominal	-Si -No	Sujetos con DMID con HbA1C > 7.5%
<b>Dependiente</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Agregación plaquetaria</li> </ul>	Cualitativa	Aumentada Normal Disminuida	Es el porcentaje de agregación con los siguientes agonistas: ADP 68-88% Colágena 70-94% Trombina 79-99% Epinefrina 78-88% Ristocetina 87-102%
<b>Intervinientes</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Edad</li> </ul>	Cuantitativa discreta	Años	Edad cronológica en años determinada en el momento de la inclusión en el estudio
<ul style="list-style-type: none"> <li>Género</li> </ul>	Nominal	-Mujer -Hombre	Identificación fenotípica de los

			sujetos en el estudio
<b>Confusoras</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Tiempo de evolución de la DMID</li> </ul>	Cuantitativa discreta	Años	Tiempo con diagnóstico de DMID
<ul style="list-style-type: none"> <li>Dosis de insulina</li> </ul>	Cuantitativa discreta	Unidades internacionales (UI)	Cantidad de insulina, en unidades internacionales (UI), que recibe el sujeto con DMID

### 8.13. Descripción de la investigación.

#### Primera fase: -Pre enrolamiento.

Por medio del servicio de endocrinología pediátrica se conocerá los sujetos con diagnóstico de DMID. Se revisó los expedientes para poder definir los grupos (compensados y descompensados)

Luego se solicitó a trabajo social los teléfonos de los sujetos para invitarlos a participar en el estudio.

Por vía telefónica se le explicó a la madre, padre o tutor legal en que consiste la investigación, cuáles son sus riesgos y beneficios para su hijo. Si aceptaban por vía telefónica participar se les agendó la primera cita para el enrolamiento en el estudio en la consulta externa de Endocrinología Pediátrica.

#### Segunda Fase: -Enrolamiento (Primera cita)

El padre/madre o tutor legal de los sujetos que aceptaron a participar en el estudio se los citará en el área de endocrinología o hematología pediátrica. Se revisaran sus expedientes para conocer si cumplen con los criterios de inclusión. Se les explicará los riesgos y beneficios de participar en el estudio. Una vez firmado el consentimiento informado (asentimiento si es necesario) se procederá a la toma de muestra respectiva. En dicho consentimiento se especificará el objetivo del estudio, los beneficios y riesgos probables.

#### Procedimiento de agregometría

- El paciente debe presentarse en ayuno
- Se obtendrán muestras de sangre periférica, extraída de pliegue antecubital y depositadas en tubos de citrato de sodio al 3.2% como anticoagulante.
- Con recuento plaquetario entre  $100 \times 10^9/L$  -  $400 \times 10^9/L$ .
- Obtención de PRR y PPP:  
Una vez obtenida la muestra debe centrifugarse a 1.500 revoluciones por minuto (rpm) durante 5 minutos, separar el plasma rico en plaquetas en un tubo de plástico.  
El resto de la muestra debe ser centrifugada nuevamente a 3.500 rpm durante 10 minutos para obtener PPP que será utilizado para diluir el PRP si es necesario.
- Ya obtenidos el PPP y en el PRP deben protegerse de la luz, sin agitarse ni exponerse a cambios bruscos de temperatura para evitar que las plaquetas

sufran cambios que afecten el resultado de la prueba. Se debe colocar la muestra en un intervalo de temperatura de 20 – 25 C.

- f) Se conecta el espectrofotómetro a una corriente eléctrica.
- g) Verificación de las celdas de reacción manteniendo una temperatura del incubador de 37°C.
- h) El espectrofotómetro debe calibrarse o ajustarse mediante la colocación de las muestras del paciente; la muestra de PPP del paciente debe colocarse en una cubeta de reacción y asignar el valor que represente el 100% de la transmitancia y la muestra del paciente PRP debe representar el 0% de la transmitancia.
- i) Se inicia la prueba con la determinación de la agregación espontánea (autoagregación) dejando correr el graficador en la línea basal por 5 minutos.
- j) Posteriormente se realiza el mismo procedimiento con ácido araquidónico a 0.25 mmol/l.

#### *Control de calidad.*

La prueba de agregometría la realizará una persona ajena a la investigación que no conoce la hipótesis del estudio. Dicha prueba se realizará de la misma manera en todos los sujetos, con el mismo reactivo y espectrofotómetro.

#### **8.14. Manejo de datos.**

Los datos serán colectados manualmente por los investigadores en el anexo 3, posteriormente el investigador almacenará la información en los programas de Microsoft Excel y en IBM SPSS versión 21 con la definición de variable, tipo de variable y escala de medición codificadas. Al finalizar este proceso se guardaran los datos en un computador del investigador principal y se respaldará la información en un discos duros externo.

Para promover la retención de los participantes y tener datos completos, el investigador se comunicará cada 15 días vía telefónica y/o correo electrónico con los participantes para conocer y aclarar sus dudas, además de otorgar información de los avances de la investigación si este fuera el caso.

#### **Análisis de datos.**

Análisis univariado: Se obtendrán medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas y frecuencias/porcentajes para las variables categóricas. Análisis bivariado comparando DMID compensada y descompensada, mediante prueba exacta de Fischer para comparar proporciones y U de Mann Whitney o T student (si la muestra es de libre distribución o de distribución normal respectivamente), con un valor de significancia estadística de  $p < 0.05$ .

Si alguna variable confusora presentará significancia estadística en el contraste de hipótesis del análisis bivariado se realizará un análisis de regresión logística.

Se utilizará como medida de asociación la razón de momios.

#### **Supervisión de los datos y auditoría.**

Los comités de ética e investigación del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” podrán monitorizar los datos, previa comunicación con el investigador, cuando ellos lo consideren conveniente. El investigador proporcionará toda la información que ellos soliciten para la supervisión.

#### **Análisis final de los datos.**

Una vez finalizado el estudio, el investigador y los tutores realizarán el análisis final de todos los datos colectados y se comunicará a los comités de ética e investigación que el estudio ha concluido.

#### **8.15. Análisis de datos.**

Análisis univariado: Se obtendrán medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas y frecuencias/porcentajes para las variables categóricas. Análisis bivariado comparando DMID compensada y descompensada, mediante prueba exacta de Fischer para comparar proporciones y U de Mann Whitney o T student (si la muestra es de libre distribución o de distribución normal respectivamente), con un valor de significancia estadística de  $p < 0.05$ .

Si alguna variable confusora presentará significancia estadística en el contraste de hipótesis del análisis bivariado se realizará un análisis de regresión logística.

Se utilizará como medida de asociación la razón de momios.

#### **8.16. Supervisión de los datos y auditoría.**

Los comités de ética e investigación del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” podrán monitorizar los datos, previa comunicación con el investigador, cuando ellos lo consideren conveniente. El investigador proporcionará toda la información que ellos soliciten para la supervisión.

#### **8.17. Análisis final de los datos.**

Una vez finalizado el estudio, el investigador y los tutores realizarán el análisis final de todos los datos colectados y se comunicará a los comités de ética e investigación que el estudio ha concluido.

### **9. ASPECTOS ÉTICOS.**

#### **Aprobación por los comités de ética e investigación.**

De acuerdo a la NOM-012-SSA3-2012 y al artículo 17 del Reglamento de La Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, se considera una investigación con riesgo mínimo, ya que se extraerá sangre en niños escolares y adolescentes con un volumen máximo de 10 ml. Por lo que se deberá obtener la autorización por parte del comité de ética e investigación del hospital en el cual se realizará la investigación.

Se ha documentado previamente el uso de la agregometría en sujetos con DMID por lo que no estamos realizando algo nuevo, solo ajustándolo a la población mexicana y comparando los sujetos con DMID compensada contra descompensada.

La versión final del protocolo, autorizada por el investigador y tutores del proyecto será sometida a revisión por los comités de ética e investigación del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre. Cualquier corrección del protocolo será ejecutada por el investigador y tutores; y posterior a la aprobación final del proyecto se iniciará la investigación.

No se empezará la investigación hasta obtener la aprobación por escrito por parte de los comités de ética, investigación y bioseguridad.

Por otro lado la investigación se realizará respetando la Declaración de Helsinki 2013 en cuanto a investigación en seres humanos se refiere, además de cumplir la

Ley Federal de Protección de Datos personales en México y cumpliendo las normas STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology) para la comunicación de estudios observacionales.

#### **Modificaciones del protocolo.**

Ante cualquier cambio o modificación del protocolo se comunicará por escrito por parte del investigador y tutores a los comités de ética e investigación.

#### **Información para el sujeto y consentimiento.**

Al paciente y sus padres o tutor legal, se les otorgará información adecuada de la investigación (tanto oral como escrita) por parte del investigador.

Se le explicará en lenguaje sencillo, con detalle en que consiste el consentimiento informado (investigación a realizar, complicaciones probables, riesgos, beneficios) y la carta de aprobación por parte del comité de ética del hospital. No se incluirán en el estudio hasta haber obtenido la firma de dicho consentimiento.

Se firmarán dos copias de consentimiento informado, uno que será para el padre o tutor y otro que se archivará en la base de datos física del investigador.

El padre o tutor puede retirar el consentimiento para participar en la investigación en cualquier momento.

#### **Confidencialidad de la información**

La información obtenida no será utilizada en detrimento de las personas que han participado en la investigación. Se protegerá la información durante y después de la investigación, para la cual se usará un código o la clave del expediente, jamás se utilizará el nombre del paciente.

La confidencialidad de los pacientes incluidos en la investigación se respetará en todo momento. Todo el personal participante de la investigación (investigador, tutores, comités de ética e investigación) están obligados a respetar el secreto médico, abstenerse a desvelar la identidad de los pacientes y entregar cualquier información de la investigación.

Se entregará un formato de aviso de privacidad donde se explicará la manera en que se manejará la información del paciente. En el cual el padre, madre o tutor legal firmarán de conformidad con una leyenda que dice que manifiesta estar de acuerdo con el tratamiento que se dará a mis datos personales. (Anexo 2 )

#### **Acceso a los datos.**

Los resultados finales de la investigación estarán disponibles, para los participantes, el investigador, tutores, comités de ética e investigación.

#### **Cuidados pos investigación.**

Se registrarán y tratarán todos los eventos adversos (mareos, equimosis) presentados durante la toma de muestras de sangre y se vigilará a los pacientes hasta que el evento haya sido superado.

#### **10. CONFLICTOS DE INTERESES.**

Los investigadores y tutores no tienen conflicto de intereses para participar en la investigación.

#### **11. CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD.**

La toma de muestra sanguínea se realizará de acuerdo a la norma oficial mexicana MON-087-ECOL-SSA!-2002, Protección Ambiental-Salud-residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo. Dicha norma indica que los objetos cortos punzantes (agujas hipodérmicas) deberán ser

almacenados en recipientes rígidos de color rojo de polipropileno para su eliminación. Los residuos sanguíneos (torundas de algodón, restos sanguíneos después de su análisis) serán almacenados en bolsas rojas de polietileno sobre recipientes metálicos para su respectiva eliminación.

## **12. RESULTADOS.**

En la tabla 1 se resumen las características basales de los grupos en estudio. Lo más representativo de dicha tabla es que el grupo 1 (DMID compensada) solo hay dos sujetos.

En las variables cuantitativas como la edad, la mediana fue de 14.4 años (8.1-17.2), el tiempo de evolución tuvo una mediana de 4 años (0.5-16); en ambas variables no hubo significancia estadística entre grupos.

En cuanto al género la DMID fue más frecuente en hombres 13 (68.4%) y fue en ellos donde se encontró dos sujetos con DMID compensada (10.1%).

El tipo de insulina más usada fue los análogos de insulina de acción prolongada + análogo de insulina de acción ultrarápida en 16 sujetos (84.2%).

Todos los sujetos en estudio tuvieron niveles de plaquetas entre 100 a 400x10<sup>9</sup>/L, por lo tanto a todos se les puede realizar agregometría.

### **13. DISCUSIÓN.**

Este es el primer trabajo realizado en niños mexicanos con DMID en el que se mide la agregación plaquetaria; esto como un acercamiento inicial para a futuro conocer si es un factor de riesgo para el desarrollo temprano de aterotrombosis.

Esta investigación tiene como hipótesis que la agregación plaquetaria es diferente en los sujetos con DMID compensada comparados con los descompensados, no conociendo por parte de nosotros, estudios en el mundo que hayan planteado una hipótesis igual.

El estudio consta de dos fases: La primera es el análisis retrospectivo de los grupos en estudio el cual ya se concluyó y la segunda fase es la comparación de la agregación plaquetaria por agregometría entre los DMID compensado contra los descompensados (esta fase está aún en el enrolamiento de sujetos).

Por el momento encontramos que el 5% de sujetos (2/40) son sujetos con DMID compensada. En la literatura mundial el control de la DMID es dada por los niveles de HbA1c, considerándose compensada aquellos sujetos con nivel inferior a 7.5%.<sup>17</sup>

El control de los diabéticos tipo 1 depende de factores como el género, dosis y tipo de insulina, tiempo de evolución, entre los más representativos. En Arabia Saudi en el 2015, Ayman A y cols, reportaron en 47 sujetos, que los niveles de HbA1c se encuentran en menor porcentaje en sujetos del género femenino,<sup>23</sup> lo cual es diferente a nuestro estudio ya que los dos únicos sujetos con DMID compensada son varones. Además el tiempo de evolución de su enfermedad de los sujetos de nuestro grupo es de 2 y 3 años respectivamente lo cual es similar a lo reportado en el estudio de Ayman A y cols, en donde los sujetos con menor nivel de HbA1C tenían menos de 7 años de evolución.

En el 2013, Carlsson B y cols, reportaron una cohorte de 331 sujetos con DMID en donde 153 (56.3%) pertenecían al género femenino.<sup>24</sup> Éste hallazgo es diferente a lo encontrado en nuestro estudio en donde solo 6 (31.5%) son mujeres. Esto puede ser secundario a un comportamiento poblacional diferente de la enfermedad en México o solo ser un hallazgo de una muestra pequeña del estudio.

En nuestro estudio el tipo de insulina más usado fue el análogo de insulina de acción prolongada+análogo de insulina de acción ultrarápida. En la actualidad hay varios tipos de insulinas de acuerdo a su vida media, composición y origen; ésta heterogeneidad hace difícil contrastar esta variable en pos de buscar una asociación entre el tipo de insulina o dosis, con el control glicémico del sujeto en estudio.

La segunda fase del estudio se encuentra en período de enrolamiento de pacientes y posteriormente la ejecución de la toma de muestras y el análisis posterior de la agregometría.

### **14. CONCLUSIÓN.**

-La DMID compensada es solo el 10.1% de nuestro grupo de estudio.

-La DMID compensada se presentó en hombres con tiempo de evolución menor a 4 años.

## **15. REFERENCIAS.**

1. Córdova V, Vargas P, Vega C, Quintero M, Hurtado R. Agregometría plaquetaria: el estudio de la agregación de las plaquetas y la disfunción plaquetaria. *Med Int Mex* 2011;27:58-74.
2. Moreno J. Diabetes mellitus tipo 1 en niños y adolescentes. *Nutr Hosp Suplementos* 2010;3:14-22.
3. Kwaan HC, Colwell JA, Cruz S, Suwanwela N, Dobbie JG. Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1971;78:844-5.
4. Kobbah AM, Ewald U and Tuvemo T. Platelet aggregability during the first two years of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in children. *Diabetologia* 1989;32:729-35.

5. Colwell J, Winocour P, and Halushka P. Do Platelets Have Anything To Do With Diabetic Microvascular Disease?. *Diabetes* 32; 2:14-19.
- Kakouros N, Rade JJ, Kourliouros A, Resar JR. *Int J Endocrinol* 2011;2011:742719.
6. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine and its reversal. *Nature* 1962; 194:927.
7. Ware JA, Collier BS. Platelet morphology, biochemistry and function. En: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, et al. *Eds. Williams hematology*, 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 1995;p:1161-201.
8. Jurk K, Kehrel BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost* 2005;31:381-92.
9. Seegmiller A, Sarode R. Laboratory Evaluation of platelet function. *Hematol Oncol Clin N Am* 2007; 21:731-42.
10. Rodgers G. Qualitative platelet disorders and von Willebrand disease. En: Kjeldsberg CR, Ed. *Practical diagnosis of hematologic disorders*. 4th edition. Chicago: ASCP Press;2006. P.327-44.
11. Haller MJ, Stalvey MS, Silverstein JH. Predictors of control of diabetes: monitoring may be the key. *J Pediatr* 2004; 144: 660-1.
12. Halvorson M, Carpentier S, Kaiseerman K, Kaufman FR. A pilot trial in pediatrics with the sensor augmented pump: combining real-time continuous glucose monitoring with the insulin pump. *J Pediatr* 2007; 150: 103-5.
13. Sin autores. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2009;32:S62-S67.
14. Craing ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2009;10(Supl.12):3-12.
15. Sin autores. Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med* 2006; 23: 857-66.
16. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, Green A, Soltesz G. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009; 373: 2027-33.
17. Rewers MJ, Pillay K, de Beaufort C, Craig ME, Hanas R, Acerini CL, et al. International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Assessment and monitoring of glycemic control in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2014;15:S102-14.
18. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000;321(7258):405-12.
19. Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, et al. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 2004;141(6):421-31.
20. Ang L, Palakodeti V, Khalid A et al., "Elevated plasma fibrinogen and diabetes mellitus are associated with lower inhibition of platelet reactivity with clopidogrel," *Journal of International Journal of Endocrinology the American College of Cardiology*, 2008;52:1052-59.

21. Maiello M, Boeri D, Podesta F et al., "Increased expression of tissue plasminogen activator and its inhibitor and reduced fibrinolytic potential of human endothelial cells cultured in elevated glucose," *Diabetes* 1992;41:1009-15.
22. Ang L, Palakodeti V, Khalid A et al., "Elevated plasma fibrinogen and diabetes mellitus are associated with lower inhibition of platelet reactivity with clopidogrel," *Journal of International Journal of Endocrinology the American College of Cardiology*, 2008;52:1052-59.
23. Ayman A. Al Hayek, Asirvatham A. Robert, Mohamed A. Al Dawish, Rim B. Braham, Hanouf S. Goudeh. Fahad S. Al Sabaan. Efficacy of Insulin Pump Therapy on Diabetes treatment Satisfaction and Glycemic Control Among Patients with Type 1 Diabetes Mellitus in Saudi Arabia: A Prospective Study. *Diabetes Ther* 2015;6:227-36.
24. Britt-Marie Carlsson, StigAttvall, MarkClements, Sridhar R. Gumpeny, Aldina Pivodic, Lennart Sternemalm, and Marcus Lind. Insulin Pump—Long-Term Effects on Glycemic Control: An Observational Study at 10 Diabetes Clinics in Sweden. *Diabetes Technol Ther* 2009;11(1): 51-6.

## 16. TABLAS.

**Tabla 1.** Características basales de los grupos en estudio

	<b>Grupo 1</b> <b>DMID*</b> <b>Compensada</b> <b>n=2 (%)</b>	<b>Grupo 2</b> <b>DMID*</b> <b>Descompensada</b> <b>n=17 (%)</b>	<b>p &lt;0.05;</b> <b>IC 95%</b>
--	---	---	-------------------------------------

- Edad en años,  
mediana (min-máx) 9.4 (8.1-10.7) 14.9 (8.3-17.2) 0.06<sup>β</sup>

• Tiempo de evolución, años (min-máx)	2.5 (2-3)	5 (0.5-16)	0.27 <sup>β</sup>
• Género			
-Femenino	0	6 (35.2)	0.45 <sup>§</sup>
-Masculino	2 (100)	11 (64.8)	
• Tipo de insulina			
-AIAP+UR**	2 (100)	14 (82.4)	0.81 <sup>β</sup>
-AIAI***	0	1 ( 5.9)	
- AIAI+UR****	0	2 (11.8)	

---

\*Diabetes mellitus insulino dependiente.

\*\*Análogos de insulina de acción prolongada+análogo de insulina de acción ultrarápida.

\*\*\*Análogos de Insulina de acción intermedia.

\*\*\*\*Análogos de insulina de acción intermedia+análogo de insulina de acción ultrarápida.

<sup>β</sup> U de Mann Whitney.

<sup>§</sup> Estadístico exacto de Fisher.

## 17. ANEXOS.

### Anexo 1. Formato de recolección de datos.

NOMBRE

CLAVE

GÉNERO M  F

EDAD EN AÑOS

TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA DMID

TIPO Y DOSIS DE INSULINA UI

HbA1C %

AGREGOMETRÍA (%)

EVENTOS ADVERSOS CEFALEA  MAREOS

LIPOTIMIA HEMATOMAS

EQUIMOSIS

## Anexo 2.

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN EN SALUD.

**NOMBRE DEL ESTUDIO:** ALTERACIONES DE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN NIÑOS.

Lugar y fecha.

Por favor tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga, para decidir si participa o no deberá tener el conocimiento suficiente acerca de los beneficios y riesgos del presente estudio de investigación.

Estimado

Señor:

\_\_\_\_\_,  
padre/madre o responsable del paciente \_\_\_\_\_, se le invita a participar en el estudio arriba mencionado, que se desarrollará en el CMN “20 de Noviembre”, cuyo objetivo será el de determinar el **Comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada**. Lo anterior con la finalidad de: **medir la agregación plaquetaria en sujetos con DMID; ya que no tenemos resultados concluyentes que nos permitan tomar sus datos como algún factor pronóstico de morbilidad o mortalidad a largo plazo.**

Su participación en el estudio consiste en: *permitir al investigador tomar una muestra de 10 ml de sangre en ayuno*

**BENEFICIOS:** “El presente estudio **podría mejorar la atención médica a futuro de su hijo**. Gracias a su participación altruista **se puede beneficiar usted, su comunidad o los pacientes, al encontrar nuevas formas de controlar las complicaciones de esta enfermedad de manera oportuna.**

**RIESGOS:** Su participación no conlleva riesgo alguno para su salud, pero se le realizará una punción con una aguja que conllevará una molestia durante la toma de la muestra.

**DISPONIBILIDAD DE TRATAMIENTO MEDICO Y/O INDEMINIZACIÓN EN SU CASO:**

No existirá indemnización ya que es un estudio sin riesgo, sin embargo se le brindará apoyo por las molestias que causa una punción.

**Importante señalar número y total de**

**páginas 1/3**

**PARTICIPACIÓN**

Su participación es VOLUNTARIA, usted puede decidir libremente participar o no, esto no afectará su derecho para recibir atención médica en el CMN “20 de

Noviembre”, si participa, puede retirarse del estudio en el momento en que lo desee sin que esto influya sobre el tratamiento habitual que le ofrece el hospital para su enfermedad de base.

INFORMACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ALTERNATIVOS O TRATAMIENTOS EXISTENTES: **No existe un procedimiento alternativo para realizar agregometría.**

MANEJO DE LA INFORMACION.

En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la ley (art. 6): Licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger sus datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado. “Su nombre no será usado en ninguno de los estudios, las muestras biológicas obtenidas, cuestionarios, etc., no contendrán ninguna información personal y se codificarán con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Los códigos que identifican su muestra o información estarán solo disponibles a los investigadores titulares quienes están obligados por ley a no divulgar su identidad”.

Usted podrá tener acceso a la información sobre este estudio en caso de solicitarlo.

PARTICIPANTE.

Confirmando haber recibido información suficiente y clara sobre el estudio propuesto, doy mi autorización para ser incluido en este proyecto de investigación, reservándome el derecho de abandonarlo en cualquier momento si así lo decido.

**Si procede:** Así mismo manifiesto que se ha obtenido el ASENTIMIENTO del menor a mi custodia, para participar voluntariamente en el proyecto de investigación.

Nombre y firma del Participante o Representante legal.

Parentesco: \_\_\_\_\_

Domicilio.

TESTIGOS:

\_\_\_\_\_

(1) Nombre y firma

Parentesco: \_\_\_\_\_

(2) Nombre y firma

Parentesco:

\_\_\_\_\_

Domicilio. \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

INVESTIGADOR O MÉDICO QUE INFORMA: **María Raquel Miranda Madrazo**; Le he explicado al Sr (a) \_\_\_\_\_, la naturaleza y los propósitos de la investigación, así como los riesgos y beneficios que implica su participación. He dado respuesta a todas sus dudas, y le he preguntado si ha comprendido la información proporcionada, con la finalidad de que pueda decidir libremente participar o no en este estudio. Acepto que he leído, conozco y me apego a la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos, que pondré el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación, por encima de cualquier otro objetivo.

#### INVESTIGADOR RESPONSABLE

**María Raquel Miranda Madrazo**

**Nombre y firma**

Teléfono de contacto: **52005003-Ext 86854-50180**

**Debe especificarse que:** El documento se expide por duplicado, entregando una copia al participante.

#### **Anexo 3.**

#### CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN EN SALUD.

**NOMBRE DEL ESTUDIO:** ALTERACIONES DE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN DIABETES MELLITUS TIPO 1 EN NIÑOS.

Lugar y fecha.

Este documento de asentimiento informado es para niños entre 7 y 18 años de edad que se someten a una toma de muestra y se les invita a participar en la investigación:

**Nombre del investigador principal:** Dra. María Raquel Miranda Madrazo.

Hola, mi trabajo consiste en investigar si al realizar una toma de muestra de sangre puede conocer como se comportan tus plaquetas (es decir, como funcionan ellas). Te voy a dar información e invitarte a tomar parte de este estudio de investigación. Puedes elegir si participas o no. Hemos discutido esta investigación con tus padres o tutores y ellos están enterados que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación a participar en el estudio. Si vas a participar en la investigación, tus padres o tutores también tienen que aceptarlo. Pero si no deseas tomar parte en la investigación no tienes porque hacerlo, aún cuando tus padres lo hayan aceptado.

Puedes discutir cualquier aspecto de este documento con tus padres o cualquier otro familiar o persona con la que te sientas cómodo. Puedes decidir participar o no después de haberlo discutido. No tienes que decidirlo inmediatamente. Puede que haya algunas palabras que no entiendas o cosas que quieras que te las explique mejor porque estas interesado o preocupado por ellas; por favor, puedes pedirme que pare en cualquier momento, y me tomaré tiempo para explicártelo.

**OBJETIVO:**

Conocer el comportamiento de la agregación plaquetaria en niños con diabetes mellitus tipo 1 compensada.

**ELECCION DE PARTICIPANTES:**

Estamos evaluando a los niños y niñas menores de 18 años que tienen diagnóstico de diabetes mellitus insulino dependiente.

**LA PARTICIPACION ES VOLUNTARIA.**

No tienes que participar en esta investigación si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no, ésta bien y no cambiará nada de tu atención. Incluso si dices que “sí” ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien todavía.

He preguntado al niño y entiende que su participación es voluntaria \_\_\_\_\_

**PROCEDIMIENTOS.**

Cuando aceptes participar te tomaremos una muestra de sangre con una aguja pequeña, te dolerá un poco pero no te causará daño. Luego con esa muestra veremos cómo funcionan tus plaquetas.

He preguntado al niño y entiende el procedimiento \_\_\_\_\_

**RIESGOS: ¿ES ESTO MALO O PELIGROSO PARA MI?**

Todos los procedimientos de tomas de muestra tienen riesgo de causar sangrado mínimo o que la piel cambie de color, lo que se conoce como equimosis o hematomas. Sin embargo, se tendrán todos los cuidados necesarios aplicados a todos los pacientes que se les realiza algún procedimiento para minimizar estos eventos adversos.

**MOLESTIAS: ¿DOLERA?**

Si, serán las molestias propias del procedimiento de toma de muestra, pero es algo breve y si persiste la molestia te ayudaremos con algún tratamiento local.

He preguntado al niño y entiende los riesgos y molestias \_\_\_\_\_

**BENEFICIOS. ¿HAY ALGO BUENO QUE VAYA A OCURRIRME?**

No hay seguridad de que el estudio te reporte algún beneficio, puedes o no tener beneficio. Pero la información que obtengamos permitirá tomar medidas para que en los niños con diabetes mellitus insulino dependientes podamos diagnosticar de manera oportuna sus complicaciones secundarias a su enfermedad.

He preguntado al niño/a y entiende los beneficios \_\_\_\_\_

**CONFIDENCIALIDAD. ¿VAN A SABER TODOS ACERCA DE ESTO?**

No diremos a otras personas que estas en ésta investigación y no compartiremos información sobre ti a nadie que no trabaje en el estudio de investigación. Cuando la investigación finalice se te dirá a ti y a tus padres los resultados de la investigación si así lo quisieran. La información sobre ti que se obtenga de la investigación será retirada y nadie más que los investigadores podrá verla. Cualquier información sobre ti tendrá un número en vez de tú nombre. Solo los investigadores sabrán cual es tu número y se guardará la información con llave en una oficina. No será compartida ni entregada a nadie excepto al personal participante en la investigación.

**COMPENSACION. ¿QUE PASA SI RESULTO DAÑADO?**

Por las características de la investigación no sufrirás ningún daño a causa de este estudio. Sin embargo si presentaras algún evento adverso como equimosis o hematomas (manchas de sangre en la piel y grasa) te daremos el tratamiento hasta que te mejores.

**COMPARTIR LOS RESULTADOS ¿ME INFORMARA DE LOS RESULTADOS?**

Cuando finalicemos la investigación, me sentaré contigo y con tus papas o tutores y les explicaré lo que hemos aprendido. También te daré un informe con los resultados. Después, informaremos a más gente, a científicos y a otros, sobre la investigación y lo que hemos averiguado. Lo haremos escribiendo y compartiendo informes con personas interesadas en nuestro trabajo.

**DERECHO A NEGARSE O A RETIRARSE DE LA INVESTIGACION. ¿PUEDO ELEGIR NO PARTICIPAR EN LA INVESTIGACION? ¿PUEDO CAMBIAR LA IDEA?**

No es obligatorio que participes en esta investigación. Nadie se enfadará o molestará contigo. Eres libre de tomar la decisión. Puedes pensar en ello y responder más tarde si quieres. Puedes decir “sí” ahora y cambiar de idea más tarde y también estará bien.

**A QUIEN CONTACTAR: ¿CON QUIEN PUEDO HABLAR PARA HACER PREGUNTAS?**

Puedes hacerme preguntas ahora o más tarde. Tengo un número y dirección donde puedes localizarme, o si estas cerca, puedes venir y vernos. Si quieres hablar con alguien más que conoces como tu profesor o médico o un familiar, puedes hacerlo también.

**SI ELEGISTE SER PARTE DE ESTA INVESTIGACION, TAMBIEN TE DARE UNA COPIA DE ESTA INFORMACION PARA TI. PUEDES PEDIR A TUS PADRES QUE LO EXAMINEN SI QUIERES**

ACEPTO FORMAR PARTE DE LA INVESTIGACIÓN:

Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_