



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE
LA SALUD
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FERDERICO GÓMEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS
DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENCIA DE AUTOANTICUERPOS CONTRA LA CÉLULA BETA PARA LA PREDICCIÓN DE
LOS REQUERIMIENTOS TEMPRANOS DE INSULINA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
DIABETES MELLITUS TIPO 2

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
MOLINA DÍAZ DARÍO JORGE MARIO

TUTOR:
PATRICIA GUADALUPE MEDINA BRAVO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

COMITÉ TUTOR
RITA ANGÉLICA GÓMEZ DÍAZ
JULIA DEL ROCÍO HERRERA MÁRQUEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS

CD. MX, AGOSTO DEL 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

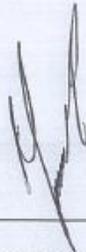


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

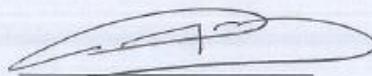
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.



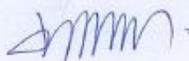
ALUMNO

DARÍO JORGE MARIO MOLINA DÍAZ



TUTOR

PATRICIA GUADALUPE MEDINA BRAVO



RESPONSABLE DE LA ENTIDAD Y/O CAMPO DISCIPLINARIO

MARA MEDEIROS DOMINGO

DEDICATORIA

A mi madre por todo el amor que me ha dado, así como todas las enseñanzas para ser el hombre en el que me he convertido. A mis hermanas por estar ahí conmigo en los momentos más difíciles y por todo su amor.

A René Domínguez. Por cariño e invaluable apoyo durante todos estos años, que me pudieron ayudar a terminar cabalmente este proyecto.

A Patricia Medina por la confianza y guía brindada durante este proyecto, que ha pesar de las adversidades, siempre estuvo conmigo codo a codo librando las batallas más complicadas en el instituto.

A todos mis amigos por su comprensión y cariño que ha pesar de no estar siempre con ellos físicamente, siempre estuvieron para mí.

Quienes sueñan durante la noche desde rincones polvorientos de la mente despiertan por la mañana para encontrar que aquello que soñaron era vanidad. Pero los soñadores diurnos son gente peligrosa, pues actúan en sus sueños con los ojos abiertos, para aquello que se sueñan se haga realidad

J. E. Lawrence

ÍNDICE

RESUMEN	5
ANTECEDENTES	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
PREGUNTA DE INVESTIGACION	17
JUSTIFICACIÓN	17
OBJETIVOS	18
HIPÓTESIS	18
MATERIAL Y METODOS	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26
CONSIDERACIONES ÉTICAS	26
RESULTADOS	27
BIBLIOGRAFÍA	35
ANEXOS	39

RESUMEN

Título: Presencia de autoanticuerpos contra la célula beta para la predicción de requerimientos tempranos de insulina en pacientes pediátricos con diabetes mellitus tipo 2

Objetivos: Evaluar la presencia de anticuerpos anti-GAD, anti-IA2 y anti Zn8T como predictores de requerimiento temprano de insulina en pacientes pediátricos con diagnóstico clínico de DM2.

Material y métodos: Es un estudio casos y controles de pacientes con el diagnóstico clínico de DM2 (68 casos y 64 controles con y sin dependencia temprana a la insulina respectivamente), ambos sexos, de 12-18 años. Somatometría completa (peso, talla, IMC, circunferencia de cintura) y tensión arterial. Con un ayuno de 12 horas, se realizó mediciones séricas en sangre venosa de glucosa, insulina, péptido-C, hemoglobina glucosilada, colesterol total, c-HDL, c-LDL, triglicéridos y transaminasas hepáticas. La medición de anticuerpos anti-GAD65, anti-IA2 y anti-Zn8T fue mediante ELISA. Se realizó estadística descriptiva (medidas de dispersión y tendencia central). Estadística inferencial con χ^2 de, t de Student para muestras independientes y regresión logística. Se tomó significancia estadística con una $p < 0.05$.

Resultados: Se incluyeron 132 pacientes. La media de edad fue de 15.9 ± 1.3 años, predominó el sexo femenino en un 53.8% con un tiempo de evolución de la enfermedad de 4.49 ± 0.88 años. La presencia de positividad del anti-GAD65, anti-IA2 y anti-Zn8T se encontró en el 29.5%, 18.2 y 15.9% respectivamente. Al dividir los grupos por dependencia temprana o no a la insulina, se demostró que, el grupo con insulina tuvo una mayor frecuencia de positividad de anticuerpos con odds ratio (OR) para el anti-GAD65 de 2.42 (1.112-5.303, $p= 0.025$); anti-IA2 de 1.55 (0.859-2.818, $p=0.105$) y anti-Zn8T de 7.32 (2.039-26.279, $p= 0.002$).

Conclusiones: La combinación de anti-GAD65 y anti-Zn8T positivos mostró un fenotipo de agotamiento de función de las células β , lo que conduce a un mayor riesgo de dependencia temprana a la insulina.

ANTECEDENTES

La diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de alteraciones metabólicas caracterizadas por hiperglucemia crónica. Puede ser debida a un defecto en la secreción de insulina, en su acción o a ambos.^{1,2}

En el 2024 la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Sociedad Internacional de Diabetes en Pediatría y en el Adolescente (ISPAD)^{2,3} clasifica en 4 grandes grupos esta enfermedad:

1.- **Diabetes mellitus tipo 1.** Destrucción generalmente de origen autoinmune de la célula beta, la cual cursa con una deficiencia absoluta de insulina. Se puede dividir en dos grupos:

- A. Origen autoinmune (anticuerpos ant-IA2, anti-GAD65, anti-ZnT8 y anti-insulina positivos)
- B. Idiopática.

2.- **Diabetes mellitus tipo 2.** Caracterizada por una resistencia a la acción de la insulina, con un defecto progresivo en la función de la célula β , provocando una deficiencia relativa o absoluta de insulina.

3.- Otros tipos específicos de diabetes

- a) *Defectos genéticos de la función de la célula beta.*
Monogénicas. Diabetes tipo MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) y Diabetes Neonatal (diabetes que se presenta entre los 6 primeros meses de vida).
- b) *Defectos genéticos de la acción de la insulina.*
Síndrome de Rabson-Mendenhall, síndrome de resistencia a la insulina tipo 1.
- c) *Defectos del páncreas exocrino:*
Pancreatitis, fibrosis quística.
- d) *Endocrinopatías:*
Síndrome de Cushing, acromegalia, glucagonoma.
- e) *Inducida por drogas o medicamentos:*
Esteroides, quimioterapia.
- f) *Infecciones:*
Rubeola congénita, enterovirus y citomegalovirus.
- g) *Formas no comunes de diabetes mediada por autoinmunidad.*

Anticuerpos antirreceptor de insulina (síndrome de Hirata), poliglandular tipo 1 y 2.

h) Síndromes genéticos asociados con diabetes:

Síndrome de Klinefelter, Turner, Prader-Willi

4.- Diabetes gestacional. Diabetes que se presenta durante el embarazo.

Los criterios diagnósticos de DM de acuerdo con la ADA son:

1. Glucemia ≥ 200 mg/dl + síntomas: poliuria, polidipsia, nicturia, pérdida de peso y en las formas más graves cetoacidosis.
2. Glucemia en ayuno ≥ 126 mg/dl o glucemia a las 2 horas tras sobrecarga oral de glucosa (1,75 g/kg glucosa, máximo 75 g) ≥ 200 mg/dl en 2 ocasiones, si no existen síntomas.
3. HbA1c $\geq 6,5\%$ (estandarizada), si inferior no excluye el diagnóstico. En pediatría este criterio está en discusión. ³

Diabetes mellitus tipo 2

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es originada por un defecto progresivo en la secreción y/o acción de la insulina, causando diversas alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y lípido.^{3,4} Como se mencionó, el defecto es progresivo en la función de las células β , lo que conduce a una reducción del 20% por año en su masa debido a un efecto compensador por la resistencia a la acción de la insulina.⁵

Actualmente, la diabetes mellitus tipo 2 es un problema de salud pública en todo el mundo, siendo de las principales enfermedades crónico-degenerativas con una alta morbi-mortalidad. En los últimos años, la incidencia de esta enfermedad ha ido en aumento, reportando en el 2021 la Federación Internacional de Diabetes 537 millones de personas con esta enfermedad.⁶ La población infantil no es la excepción, ya que se siguen presentando nuevos casos, sobre todo en adolescentes, coincidiendo con pico fisiológico de resistencia a la insulina durante la pubertad.^{6,7} No obstante, la diabetes tipo 1 (DM1) sigue siendo el tipo de diabetes más frecuente en la población, sin embargo, estas prevalencias se están modificando debido a los cambios en los estilos de vida, que han favorecido el desarrollo de obesidad, síndrome metabólico. Un claro ejemplo de ello es en Japón y Estados Unidos reportándose una prevalencia de diabetes en la población infantil de 45% y 80% respectivamente^{8,9}, con una tasa 100,000 nuevos casos por año.¹⁰

Dentro de los mecanismos principales descritos para la génesis de la enfermedad se encuentran la resistencia a la insulina y el deterioro en su secreción por una disfunción progresiva de las células β , los cuales pueden variar entre individuos y convierten a la DM2 en una entidad con una heterogeneidad importante.¹¹

Hace más de una década DeFronzo describió una serie de ocho mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la DM2.¹² Actualmente, Schwartz y colaboradores recientemente describen la Oncena atroz (*Egregious Eleven*) u Orquesta ominosa, que es un constructo centrado en la célula β , y su disfunción es el común denominador final en la DM2. Actualmente se conocen once vías metabólicas mediadoras de hiperglucemia, muchas de ellas contribuyen a la disfunción de las células β (a nivel de hígado, músculo, tejido adiposo). Órganos como cerebro, colón/microbiota y disregulación inmunología/inflamación perpetúan la hiperglucemia. Otro resultado de la disfunción de la célula β a través de efectos posteriores es el efecto incretina disminuido, produciendo a su vez una disminución en la producción de insulina, defecto en la célula α , niveles de amilina disminuidos, por lo que, a nivel de estómago/intestino delgado hay un incremento en tasa de absorción de glucosa y en riñón hay un aumento de la reabsorción de glucosa.¹³

No obstante, a pesar del hiperinsulinismo como mecanismo compensador para mantener la homeostasis glucémica, la hiperglucemia sostenida a lo largo del tiempo favorece el agotamiento de las células β resultado de la toxicidad de la glucosa, lipotoxicidad y otros mecanismos. La hiperglucemia y la resistencia a la insulina pueden favorecer un incremento del estrés oxidativo y un aumento de los productos de la glucosilación avanzada que se han asociado con el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares. Adicionalmente, debido a la creciente epidemia de obesidad en población infantil y la directa relación existente con DM2, el efecto proinflamatorio y de adipogénesis secundario a la hiperleptinemia del paciente con obesidad más asociado con la resistencia a la insulina en el contexto de DM2 contribuye al desarrollo de un estado de hipercoagulabilidad y disfunción endotelial. La relación recíproca entre resistencia a la insulina y disfunción endotelial aumenta el riesgo de enfermedades metabólicas, renales y cardiovasculares.^{13,14} Las evidencias recientes sugieren que la DM2 de inicio temprano corresponde a un fenotipo más agresivo, los pacientes suelen tener un IMC mayor, alteraciones lipídicas, peor control metabólico, complicaciones crónicas y riesgo de muerte significativamente mayor por causas cardiovasculares o

eventos isquémicos. Por lo anterior, la DM2 en población infantil en definitiva obedece a un fenotipo de mayor agresividad y peor pronóstico a lo largo del tiempo.^{15,16}

El diagnóstico de diabetes incluye la presencia de hiperglucemia de acuerdo con los criterios de la ADA y la posterior determinación del tipo de diabetes de acuerdo con el fenotipo clínico y bioquímico, el cual tiene implicaciones relevantes tanto para su abordaje terapéutico como enfoque educativo; sin embargo, los cambios en los estilos de vida han condicionado mayores tasas de obesidad en pacientes pediátricos, por lo que el diagnóstico de diabetes en niños puede no ser del todo sencillo y las características clásicas que distinguían a la DM1 de la DM2 pueden ahora observarse en ambos tipos.^{2,17}

Los datos clínicos que suelen apoyar la presencia de DM2 son: sobrepeso u obesidad, familiares de primer o segundo grado afectados, presencia de *acantosis nigricans*, hipertensión arterial, dislipidemia, hígado graso no alcohólico, historia de diabetes gestacional, peso bajo o macrosomía al nacimiento, síndrome de apnea obstructiva del sueño, síndrome de ovarios poliquísticos o el hallazgo de hiperglucemia en un examen de rutina en un paciente asintomático,^{2,3,18} sin embargo, debido a la creciente epidemia de obesidad estos datos pueden encontrarse también en pacientes con DM1 y es la evolución de la diabetes la que en ocasiones define el tipo de diabetes específico en cada individuo.¹⁹

En un estudio realizado en pacientes pediátricos se encontró que el 40% de los pacientes con DM2 tenían familiares de primer grado afectados y 81.5% de segundo grado. Al diagnóstico, 79% tenían poliuria, 84% polidipsia, 38% polifagia, 50% pérdida de peso y 76% *acantosis nigricans*. En cuanto a la condición nutricional; 11.3% tenían un peso normal, 34% tenían sobrepeso y 54.7% tenían obesidad, reflejando que el fenotipo de DM2 en pacientes pediátricos puede ser muy variable.¹⁹

La ausencia de anticuerpos pancreáticos también suele orientar hacia la presencia de DM2, sin embargo, se ha reportado que hasta un 10 a 40% de casos con DM2 dependiendo de la población tienen anticuerpos pancreáticos positivos, asociándose con una deficiencia más temprana en la secreción insulina y el riesgo latente de desarrollar otros trastornos autoinmunes.²⁰ Por otra parte, aunque anteriormente se consideraba a la DM2 como no insulino-dependiente, actualmente se sabe que hasta el 30% de los pacientes pediátricos debutan con cetoacidosis diabética y requieren tratamiento inicial con insulina, la cual puede suspenderse por algún tiempo y reiniciarse nuevamente al

agotarse la reserva pancreática. Debido a lo anterior, los niveles de péptido C ≥ 0.5 ng/dL pueden ser un marcador de forma indirecta, de que todavía existe secreción endógena de insulina y por lo tanto orientan a DM2, sin embargo, este puede encontrarse disminuido al inicio del diagnóstico y en las etapas finales de la enfermedad.^{21,22} Por lo tanto, la etiología de la DM2 es de carácter multifactorial y compleja debido a la interacción de factores genéticos, perinatales, medioambientales, dietarios y psicosociales.²³

Anticuerpos pancreáticos

Se han identificado múltiples antígenos de la célula β , frente a los cuales existe una respuesta en forma de anticuerpos o una respuesta inmune celular detectable. Un gran número de estudios han confirmado la presencia de muchos de estos anticuerpos en el plasma de sujetos que desarrollan la falla de la célula β antes de la que la diabetes se haga clínicamente evidente. En la actualidad se han detectado los anticuerpos dirigidos contra la isoforma 65 de la enzima descarboxilasa de ácido glutámico (anti-GAD65), anticuerpos contra la membrana tirosinofosfatasa (anti-IA2) y los anticuerpos contra el transportador 8 de Zinc (anti-ZnT8).²⁴

Anticuerpo contra la enzima 65 descarboxilasa de ácido glutámico (Anti-GAD65)

En 1990, Baekkeskov y colaboradores, demostraron que el antígeno conocido como proteína 64K, presente en la membrana de la célula β , tenía una estructura similar a la enzima que convierte el ácido glutámico en ácido gamma aminobutírico (GABA), lo que abrió nuevas perspectivas en la comprensión de las bases moleculares de la patogénesis de la Diabetes tipo 1. El antígeno (GAD), se considera como uno de los principales efectores para el desencadenar del proceso autoinmune en la diabetes.²⁵

El anti-GAD comprende dos formas antigénicas denominadas GAD-67 y GAD65, que están codificadas por diferentes genes y están presentes en diferentes tejidos: cerebro y páncreas respectivamente. Durante la agresión autoinmune, el organismo produce anticuerpos contra este antígeno, lo que induce la destrucción inmunológica de la célula β . Los anticuerpos anti-GAD están presentes en el 80% de los individuos en el estado de prediabetes y su vida media puede ser hasta 8-11 años, por lo que su identificación de manera temprana tiene un importante significado en las estrategias de prevención de la enfermedad.^{26,27,28}

Anticuerpo contra la membrana tirosinfosfatasa (IA-2)

El IA2, es un miembro de la familia de las proteínas tirosina fosfatasa. Se localiza en los gránulos densos de las células β y el segundo antígeno más frecuente. El anti-IA2 comparte similitud con el antígeno de las células del islote ICA-512. La mayor frecuencia de anticuerpos contra IA2 se explica por la presencia de anticuerpos dirigidos a la porción carboxi-terminal COOH de la tirosina fosfatasa que es única y que carece la molécula ICA512.²⁹

El anticuerpo IA2 está presentes en la mayoría de las personas con DM1 de nueva presentación y puede ser detectado desde la fase de prediabetes y puede estar positivo 5-10 años antes del inicio de la enfermedad. La aparición de estos anticuerpos parece estar correlacionada con la rápida progresión de la enfermedad.

La combinación de los anticuerpos GAD65, IA2 es muy relevante para la evaluación del riesgo de DM1 en niños y adolescentes. La positividad de estos anticuerpos está presente en más del 90% de los sujetos y son más específicos que los anticuerpos contra el islote pancreático ICA-512.³⁰

Anticuerpo contra el transportador 8 de Zinc (Anti-Zn8T)

El zinc es mineral esencial para la salud del ser humano, que cuando presenta deficiencia puede ocasionar diversas consecuencias en el organismo que pueden ser fatales.^{31,32} En el caso del páncreas, la célula β tiene un gran contenido de zinc en los gránulos secretores de insulina. El transportador 8 de zinc (Zn8T) es una proteína producida por el gen *SLC30A8* y es responsable del transporte del zinc al interior de la célula β , aumentando sus concentraciones a nivel de los gránulos secretores de insulina y que esta última sea liberada de acuerdo con las concentraciones séricas de glucosa.³³ La formación de anticuerpos contra el transportador 8 de zinc (anti-Zn8T) es muy frecuente en la Diabetes Mellitus tipo 1 y en la Diabetes Autoinmune Latente del Adulto (LADA) encontrándose positivos entre un 60-80%, lo que nos habla de daño inmunológico, sin embargo, existen pocos estudios a cerca de la presencia de este tipo de marcadores en pacientes con DM2. Pilla y colaboradores incluyeron una muestra de 204 adultos con DM2 en el cual reportan la presencia de anticuerpos contra el transportador 8 de zinc positivos en el 1% de la muestra, no obstante, el 6.4% podían a tener positividad en combinación con otros anticuerpos (anti-GAD e IA2).³⁴

Daño de la célula β

Los mecanismos que contribuyen a la destrucción de células β son principalmente los mediados por la infiltración linfocítica. Los linfocitos T reaccionan contra los antígenos de las células β y provocan daño celular. Estas células T incluyen:

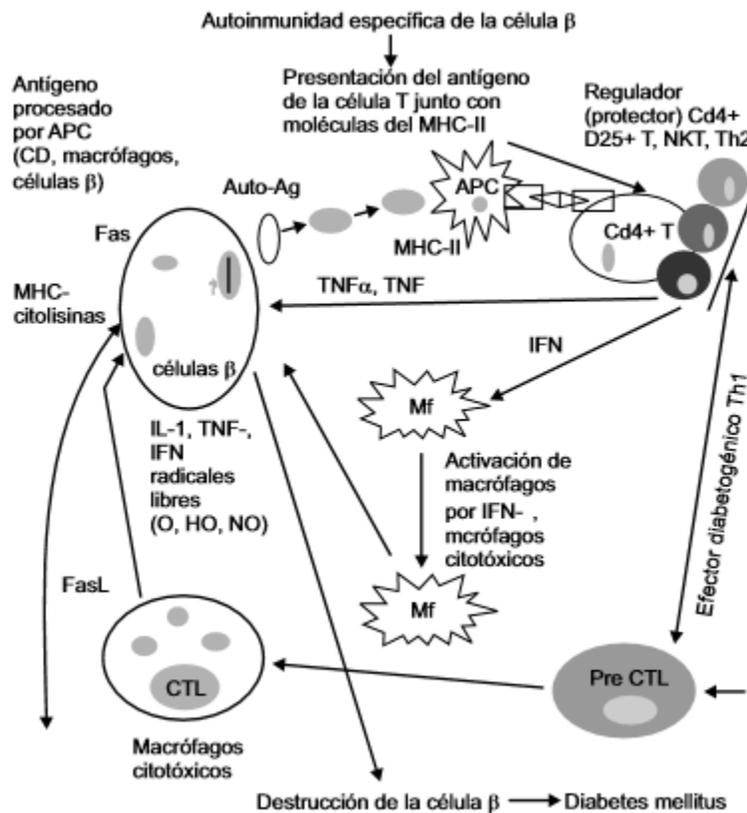
- Células T CD4+ del subtipo TH1, que causa lesión tisular mediante activación de los macrófagos.
- Linfocitos T citotóxicos CD8+ que destruyen a las células β directamente y secretan citocinas que también activan a los macrófagos.

En los casos poco frecuentes, donde las lesiones pancreáticas se han podido observar en los estadios iniciales de la enfermedad, los islotes muestran necrosis celular e infiltración linfocítica, estas lesiones se denominan insulinitis.³⁵ La infiltración está formada por células T CD4+ y CD8+. Las células β supervivientes a menudo expresan moléculas de MHC-II, probablemente efecto de la producción local de interferón gamma (IFN γ) por las células T; la especificidad de estas células es desconocida. Diversas investigaciones han implicado a una enzima de las células β , el ácido glutámico deshidrogenasa, y a la propia insulina como autoantígenos, aunque las pruebas que apoyan su importancia son en gran medida circunstanciales o están basadas en modelos murinos. La producción local de citocinas también contribuye al daño a las células β . Entre las citocinas implicadas en la lesión celular están el TNF γ producido por las células T, el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) e interleucina 1 (IL1) generados por los macrófagos activados durante la reacción inmunitaria. Se ha demostrado que todas estas citocinas pueden inducir apoptosis de las células β .³⁶

En este sentido, los antígenos son procesados por las células presentadoras de antígenos y presentados a las células T cooperadoras (TH) en asociación con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II). Posteriormente, los autoanticuerpos reaccionan contra esos antígenos de las células β , incluyendo el ácido glutámico deshidrogenasa. Por lo tanto, esos anticuerpos podrían participar en el desarrollo de la enfermedad o ser el resultado de la lesión celular mediada por células T y de la liberación de antígenos normalmente secuestrados. Es probable que muchos de estos mecanismos inmunes actúen juntos para producir la destrucción progresiva de las

células β , conduciendo al desarrollo de la diabetes clínica. Dentro de los factores que predisponen a la autoinmunidad, son la infiltración de interleucina 12 (IL12) de las células presentadoras de antígenos activas CD4 TH1, responsables del balance inmune entre las células (efectoras y reguladoras). Las células TH1 producen IL2, la cual activa a las células T precitotóxicas específicas para convertirse en citotóxicas y liberar INF γ ; también pueden activar a los macrófagos, haciendo que sean citotóxicos. Estos macrófagos citotóxicos producen citocinas contra las células β , incluyendo IL1b, TNF α , TNF γ y formación de radicales libres que, a su vez, las células TH1 secretan citocinas que dañan directamente la célula β . Las células B antígeno específicas CD8+ (CTL) reconocen a los antígenos expresados en la célula en asociación con moléculas MHC-I y liberan citolisinas tóxicas para la célula β , tales como Fas y TNF-R (mediador de apoptosis). De esta manera, macrófagos, células T y citocinas actúan para destruir a las células β , dando como resultado el desarrollo de DM autoinmune.^{37,38,39}

Mecanismos de destrucción de la célula β



Una vez que la autoinmunidad contra la célula β se presenta, la destrucción autoinmune da lugar a la enfermedad.³⁵

La presencia de dos o más anticuerpos incrementa la capacidad de predicción en poblaciones de riesgo. Por su mayor costo y dificultad metodológica, los ICA han sido

desplazados como prueba de tamizaje de primera línea por la combinación de anticuerpos anti-GAD y anti-IA2, que permite predecir con elevada sensibilidad (de hasta más del 85 %) y especificidad (de hasta el 98 %) el desarrollo de la DM en familiares de primer grado (FPG) de personas con DM 1. A estos se añaden, principalmente en edad pediátrica, los IAA que en caso de estar presentes en estos familiares, aumentan el riesgo de desarrollo de una DM 1. En estudios de predicción con sujetos menores de 10 años, se recomienda la combinación de anticuerpos anti-GAD e IAA para el tamizaje de primera línea. Aquellos con mayor número de anticuerpos, y con títulos más elevados son los que presentan un riesgo mayor de desarrollar DM 1. Al identificar alguno de los anticuerpos en el tamizaje de primera línea, se debe completar la caracterización del riesgo determinando un tercero e incluso un cuarto anticuerpo. Se recomienda como tamizaje de segunda línea la determinación de ICA e IAA, siendo sustituida esta última por la especificidad de los anticuerpos anti-IA2 en personas menores de 10 años.^{40, 41}

Anticuerpos pancreáticos y Diabetes Mellitus tipo 2

La destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas es el principal mecanismo de daño en la Diabetes Mellitus tipo 1. Sin embargo, estos marcadores de autoinmunidad pueden estar presentes en 15-40% de los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.⁴²

En un estudio realizado en el Reino Unido, incluido en la cohorte del UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) reclutaron a 3672 pacientes de 25-65 con diagnóstico de DM2. Se les realizó determinación de anticuerpos anti-GAD65 e ICA-512. El 10% de los pacientes tuvieron anticuerpos positivos anti-GAD65, 6% ICA-512 y el 4% tuvieron ambos anticuerpos positivos. Cabe mencionar que, la presencia de ambos anticuerpos fue más frecuente en pacientes jóvenes de 25-34 años. El 94% de los pacientes con ICA-512 positivos y el 84% de los pacientes anti-GAD65 positivos, requirieron terapia con insulina de manera temprana (<6 años) en comparación con un 14% de pacientes sin anticuerpos positivos, confiriendo un OR= 13.4 (5.28-34.0 IC al 95%) para requerimiento temprano de insulina.⁴³

Bottazzo y colaboradores en Italia determinaron en 2556 pacientes de 25-65 años con diagnóstico reciente de DM2 niveles de anticuerpos IA-2. De esta población, el 2.2% presentó anticuerpos positivos y niveles más altos en los pacientes jóvenes y durante su seguimiento a 5 años se observó un requerimiento de insulina por fallo temprano en la secreción endógena, confiriendo un OR de 12.2 (IC 95% 9.8-15.3).⁴⁴

En el estudio TODAY en una cohorte en Estados Unidos, se incluyeron niños y adolescentes de 10-17 años con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, fueron medidos los niveles de anticuerpos antiGAD-65 e IA-2. De los 1206 pacientes reclutados, el 9.8% tuvieron positividad en los anticuerpos; 5.9% para un solo anticuerpo y 3.9% para ambos anticuerpos. Los anticuerpos positivos fueron más frecuentes en la población blanca y con predominio en el sexo masculino en 51.7%. Las variables metabólicas como colesterol total, colesterol-HDL, péptido-C, hemoglobina glucosilada y tensión arterial tuvieron diferencias significativas entre los grupos, ya que el grupo con positividad en los anticuerpos, tuvieron un fenotipo clínico y bioquímico más adverso en comparación al grupo con anticuerpos negativos.⁴⁵

Reinehr y colaboradores en Alemania, estudiaron a 128 niños con DM2, midiendo niveles de anticuerpos anti-GAD65, ICA-512 e IA-2. El 36% de los casos tuvieron positividad en al menos un anticuerpo, no encontrando diferencias significativas entre los grupos de anticuerpos positivos y negativos en cuanto a las variables metabólicas, pero si con una tendencia a la significancia estadística en cuanto al IMC, siendo más elevado en el grupo con anticuerpos positivos. Con respecto a la dependencia de insulina, no se reportan diferencias significativas en el inicio temprano de insulina (>1 año), siendo 45% en el grupo con anticuerpos positivos versus 40% con anticuerpos negativos.⁴⁶

En un estudio realizado en el Texas Children's Hospital por Redondo y colaboradores en 607 pacientes menores de 19 años con diagnóstico de DM2, determinaron niveles anticuerpos anti-GAD65 e ICA-512, reportando que, el 19.1% tenían positividad en un anticuerpo, mientras que el 39.8% presentaron positividad en los dos anticuerpos medidos. Al medir el IMC, se reportan diferencias entre los grupos, siendo más obesos en el grupo de anticuerpos positivos en comparación con los negativos. En cuanto a la funcionalidad y dependencia de insulina, en el grupo con anticuerpos positivos el 25% de los pacientes iniciaron tratamiento con insulina a partir de los 2 años del diagnóstico, un 25% estaba siendo tratada exclusivamente con insulina y el 50% con terapia combinada (insulina + metformina).⁴⁷

Buzzetti y colaboradores estudiaron en 1850 adultos con DM2, midiendo los anticuerpos anti-GAD65 y anti-IA2, reportando un 6.5% de los pacientes con positividad a uno de los

anticuerpos, siendo más frecuente el anti-GAD 65 en un 4.1% en comparación con el anti-IA2 en un 3.3%. Los pacientes con anti-IA2 positivo mostraron un fenotipo clínico y bioquímico clásico de la DM2. En cuanto a la progresión de inicio de insulina durante un periodo de 7 años, el 61.5% progresó a terapia con insulina cuando los dos anticuerpos estaban positivos y el 62.5% cuando estuvo presente un anticuerpo positivo (anti-GAD65) determinando como posible marcador predictivo de inicio temprano de insulina con un OR= 5.1.⁴⁸

Derivado de lo anterior, al tener una variabilidad en las razones de momios reportadas para requerimientos tempranos de insulina de 5.1-13.4 se establece por parte de los investigadores de este estudio una razón de momios de 2.0.

Requerimientos tempranos de insulina

Si bien, la diabetes era considerada el asesino silencioso, en donde podría pasar una persona afectada alrededor de 10-20 años sin conocerse con la enfermedad, iniciando con un cuadro de crisis hiperglucémica y tratamiento con insulina ante la depleción de los niveles de insulina endógena. Sin embargo, de acuerdo con el estudio UKPDS los pacientes adultos que agotaron la función de la célula β y, por ende, iniciaron el tratamiento de manera temprana con insulina fue de 1-6 años sobre todo ante la presencia de autoinmunidad.^{43,44} En otra población de adultos con DM2 se reportaron inicio de insulino terapia dentro de los primeros 7 años.⁴⁸

En cuanto a la población pediátrica al parecer, la dependencia temprana a la insulina se presenta más tempranamente, ya que posterior al año del debut de la enfermedad Reinehr y colaboradores mostraron un porcentaje importante de adolescentes que requirieron insulina exógena de manera permanente. Estos hallazgos de insulinización temprana fueron también reportados por Redondo en adolescentes estadounidenses, sin embargo, a diferencia de Reinehr, estos iniciaron tratamiento temprano con insulina a partir de los 2 años.⁴⁷

Por lo tanto, al tener un curso más agresivo esta enfermedad en la edad pediátrica, tal y como se refiere en el estudio TODAY y por la variabilidad del inicio de insulino terapia permanente entre 1 a 2 años en los diferentes estudios pediátricos, se plantea la

posibilidad de que tres años de evolución de la DM2 pudiera ser un tiempo prudente para determinar el agotamiento de la función de la célula beta.⁴⁵

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Diabetes Mellitus tipo 2 es una enfermedad multifactorial en donde intervienen diversos factores que culminan con el estado de hiperglucemia crónica, resistencia a la acción de la insulina, apoptosis de la célula beta con una ausencia completa de insulina. En este sentido, se han documentado once mecanismos en la génesis de la enfermedad, sin embargo, el comportamiento de la DM2 en la población pediátrica pudiese ser diferente, ya que se han descrito un fenotipo clínico y bioquímico mucho más agresivo en comparación a la población adulta, en donde podría pasar 10 a 20 años sin diagnosticarse, de tal forma que, al parecer este grupo etario desarrolla una dependencia más temprana a la insulina y una presentación de las complicaciones crónicas en un plazo más temprano.

La presencia de un fenómeno de autoinmunidad, dada por la positividad sérica de autoanticuerpos contra la célula beta, teniendo al parecer un efecto deletéreo en la función de la célula beta y en la secreción de la insulina, muy similar a los mecanismos descritos en la DM1, sin embargo, existe escasa información sobre el papel que estos autoanticuerpos desempeñan en el comportamiento de la DM2 en niños y adolescentes.⁴⁶

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿La presencia de anticuerpos (antiGAD, anti-IA2 y anti-Zn8T) positivos es un predictor para los requerimientos tempranos de insulina en pacientes pediátricos con diabetes mellitus tipo 2?

JUSTIFICACIÓN

El curso de la diabetes tipo 2 en niños y adolescentes parece tener un comportamiento más agresivo, por lo que, al determinarse la presencia de autoinmunidad dada por la presencia de anticuerpos positivos contra la célula β como un probable modificador de la evolución de la enfermedad en pacientes con DM2 y un efecto deletéreo sobre la función de la célula β y por lo tanto de requerimientos tempranos del tratamiento con insulina pudiera. En este sentido, esto puede representar un nuevo punto en el seguimiento de

estos pacientes, llevando un manejo y vigilancia mucho más estrecha de lo recomendado a fin de mantener el mayor tiempo posible al paciente en metas glucémicas, evitando la aparición de las complicaciones micro y macrovasculares.

Actualmente, en el Hospital Infantil de México Federico Gómez se cuenta con la posibilidad de determinar niveles séricos de anticuerpos anti-GAD65 a través del método ELISA, lo cual abre una ventana de oportunidades para poder realizar una caracterización más específica de estos pacientes. No obstante, el poder demostrar la frecuencia de la positividad de los otros dos anticuerpos (anti-IA2 y anti-Zn8T) podría sumarse a la batería diagnóstica para este tipo de pacientes.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la presencia de anticuerpos anti-GAD65, anti-IA2 y anti-Zn8T como un predictor de requerimiento temprano de insulina en pacientes pediátricos con DM2.

Objetivos secundarios

- Comparar las características metabólicas de los pacientes pediátricos con DM2.
- Determinar el control glucémico en la población.

HIPÓTESIS

La presencia de positividad del anticuerpo anti-GAD65, conferirá una razón de momios de 2.0 para el requerimiento temprano de insulina en pacientes pediátricos con diabetes mellitus tipo 2.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio

Casos y controles

Población.

Niños y Adolescentes con diabetes mellitus tipo 2 que asisten a la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Criterios de inclusión

Casos:

- Diagnóstico de DM2 de acuerdo con los criterios de la ADA e ISPAD y por fenotipo clínico (sobrepeso/obesidad y acantosis nigricans).
- Sin antecedentes diabetes diagnosticada antes de los 25 años en familiares en primera y segunda línea.
- Evolución de la DM2 \geq 3 años.
- Tratamiento permanente con insulina posterior a los 3 años de inicio de la enfermedad.
- Ambos sexos.
- Edad de 12 a 18 años.

Controles:

- Diagnóstico de DM2 de acuerdo con los criterios de la ADA e ISPAD y por fenotipo clínico (sobrepeso/obesidad y acantosis nigricans).
- Sin antecedentes diabetes diagnosticada antes de los 25 años en familiares en primera y segunda línea.
- Evolución de la DM2 \geq 3 años.
- Tratamiento permanente con biguanidas, análogos de GLP-1 o cambios de estilos de vida.
- Ambos sexos.
- Edad de 12 a 18 años.

Criterios de no inclusión

- Menores de 13 años.
- Mujeres embarazadas.
- Sujetos que no acepten participar en el estudio.
- Pacientes en los que no se obtenga la cantidad adecuada de sangre para realizar los estudios y no sea posible tomar una nueva muestra.

Variables de estudio

Dependiente / resultado: *Requerimiento de insulina exógena (≥ 3 años de evolución de la enfermedad).*

Variable independiente: *Autoinmunidad dada por la presencia de uno o más anticuerpos positivos (anti-GAD65 y/o anti-IA2 y/o antiZn8T) en pacientes pediátricos con DM2.*

Variables potencialmente confusoras: *Tiempo de evolución de la enfermedad, sexo e índice de masa corporal.*

Definición de las variables

Edad

Definición operacional: Tiempo transcurrido desde el nacimiento del paciente hasta la inclusión del estudio.

Escala de Medición: Cuantitativa continua.

Sexo

Definición operacional: Características fenotípicas que clasifican a las personas en hombres y mujeres.

Tipo de variables: nominal, dicotómica.

Peso

Definición operacional: Parámetro antropométrico que valora el estado nutricional del organismo, determinado mediante báscula de pie y aproximado a la décima de kilogramo más próxima.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Talla

Definición operacional: Distancia entre el vértice y el plano de sustentación, obtenido mediante un estadiómetro y ajustado al centímetro más próximo.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Índice de masa corporal (IMC)

Definición operacional: Índice que representa la proporción de grasa corporal, se expresa como el peso en kilogramos dividido entre la talla al cuadrado, expresada en centímetros.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Circunferencia de cintura

Definición operacional: Medición con cinta métrica flexible a la mitad de la distancia de la última costilla y la cresta iliaca en espiración, realizada por un solo observador.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Estadio de Tanner

Definición operacional: escala de valoración clínica de la evolución de los caracteres sexuales secundarios.

Tipo de variable: ordinal.

Presión arterial

Definición operacional: posterior a 5 minutos de encontrarse el paciente en sedentación con un brazalete que cubra 2/3 de la longitud del brazo y utilizando baumanómetro aneroide calibrado, se determinarán las cifras de tensión arterial en tres ocasiones, y el promedio será considerado como la cifra de tensión arterial.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Obesidad

Definición operacional: aumento del índice de masa corporal > percentil 95 ajustada para edad y sexo, tomando como referencia las tablas de la CDC.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

Sobrepeso.

Definición operacional: aumento del índice de masa corporal > percentil 85 y < percentil 95 tomando como referencia las tablas de la CDC.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

Peso normal

Definición operacional: Índice de masa corporal entre el percentil 25 y 75 ajustado para la edad y sexo, tomando en cuenta como referencia las tablas de la CDC.

Escala de medición: nominal, dicotómica.

Colesterol HDL (C-HDL)

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

Escala de medición: cuantitativa, continua

Colesterol LDL (C-LDL)

Definición operacional: Cifra de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad, calculado mediante la fórmula de Friedewald.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Triglicéridos

Definición operacional: cantidad de grasa formada por una molécula de glicerol y 3 ácidos grasos, determinados mediante espectrofotometría con técnica de cinética bicromática.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Glucosa

Definición operacional: cantidad de glucosa circulante en el plasma, determinada mediante espectrofotometría con técnica bicromática de punto final, con un equipo de Dimensión XL.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Insulina

Definición conceptual: hormona que interviene en la regulación del metabolismo de carbohidratos

Definición operacional: concentración sérica de insulina en uU/ml determinado mediante quimioluminiscencia con analizador Inmulite®.

Escala de medición: cuantitativa, continua

Péptido C

Definición conceptual: Elemento secretado de manera equimolar con la molécula de la insulina.

Definición operacional: concentración sérica de péptido C en ng/ml determinado mediante quimioluminiscencia con analizador Inmulite.

Escala de medición: cuantitativa, continua

Hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c)

Definición operacional: Porcentaje de unión de la hemoglobina con moléculas de glucosa a nivel sanguíneo y por la vida de la vida de los eritrocitos (120 días) nos indica el promedio de glucosa en los últimos 3 meses.

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Reserva pancreática

Definición operacional: Índice de HOMA- β (Homeostasis Model Assessment beta) mayor o igual a 60. El cálculo del HOMA- β [(insulina en ayuno en μ UI/ml x 20) / (glucosa en ayuno en mmol/L – 3.5)].

Escala de medición: cuantitativa, continua.

Anticuerpos anti-GAD65

Definición conceptual: Autoanticuerpos séricos contra la isoforma 65KD de la Descarboxilasa de ácido glutámico, implicada en la autoinmunidad contra la célula beta del páncreas.

Definición operacional: Concentración sérica anti-GAD65 usando el método de ELISA GAD65 (método estandarizado; preparación de referencia internacional 97/550) reportado en unidades internacionales por ml, con rango de referencia normal <5 UI/ml.

Escala de medición: Nominal, dicotómica.

Anticuerpos anti-IA2

Definición conceptual: Auto anticuerpos contra los residuos de aminoácidos 256-979 de la Tirosina-Fosfatasa pancreática.

Definición operacional: Concentración sérica anti-IA2 usando el método de ELISA reportado en unidades internacionales por ml, con rango de referencia normal <0.8 UI/ml.

Escala de medición: Nominal, dicotómica.

Anticuerpos anti-Zn8T

Definición conceptual: Auto anticuerpos contra el transportador 8 de Zinc.

Definición operacional: Concentración sérica anti-Zn8T usando el método de ELISA reportado en unidades internacionales por ml, con rango de referencia normal < 15UI/ml.

Escala de medición: Nominal, dicotómica.

Requerimientos tempranos de insulina

Definición conceptual: Inicio de terapia de insulina exógena (Insulina humana o análogos de insulina) en un periodo mayor o igual de 3 años de haber hecho el diagnóstico de DM2.

Escala de medición: Nominal, dicotómica.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó mediante la razón de momios, $\alpha = 0.05$, con un poder del 80% para una prueba de una cola, con valor de $Z_{\alpha} = 1.96$.

$$n = z_{1-\alpha/2}^2 \frac{1/[P_1(1-P_1)] + 1/[P_2(1-P_2)]}{\ln^2(1-\epsilon)}$$

Al sustituir los valores:

$$n = 3.8416 \frac{1/0.91(0.09 \times 0.91) + 1/0.96(0.04 \times 0.96)}{\ln^2(0.95)}$$

$$n = 3.8416 \frac{13.41 + 27.12}{(0.26)}$$

$n = 155$ pacientes por grupo.

PROCEDIMIENTOS

La revisión de los pacientes y toma de muestras se realizó en la Clínica de Diabetes (CANDI) del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Se interrogó a los padres o cuidadores primarios y se obtuvo información acerca de los antecedentes heredofamiliares y perinatales. Se les explicó las características del estudio, objetivos, procedimientos, riesgos y beneficios. Se solicitó la firma de consentimiento y asentimiento informado.

Antropometría y presión arterial

Se midió al paciente sin calzado y con la menor cantidad de ropa posible. El peso se determinó en una báscula digital (Seca ® 884, Hamburgo, Alemania) con una exactitud de 0.1 kg. La talla se determinó mediante un estadímetro (Seca ®, Hamburgo Alemania) con una exactitud de 0.1 cm. Se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC) mediante las dos mediciones previas. La circunferencia de cintura (CC) se midió al final de la espiración con cinta flexible no elástica con una exactitud de 0.1 cm (Seca ®, Hamburgo, Alemania) en posición de pie, en el punto medio entre el borde costal inferior y la cresta iliaca. La presión arterial se midió con esfigmomanómetro de mercurio en el brazo derecho sostenido a nivel del corazón posterior a un reposo de 5 minutos en sedestación, con un brazalete de tamaño adecuado para el paciente. Se realizaron tres mediciones utilizando el primero y quinto ruido de Korotkoff con la lectura más cercana cada 2 mmHg y finalmente se calculó el promedio de las mediciones.

Pruebas bioquímicas y anticuerpos

El procedimiento de las pruebas bioquímicas se realizó en el laboratorio de Endocrinología (4to piso edificio Arturo Mundet) y en el laboratorio Central (2do piso edificio Federico Gómez). Los pacientes acudieron con un ayuno de 12 horas y se obtuvo muestra de sangre periférica (10 mL en total) para la medición de: glucosa (mg/dL hexocinasa Dimesion RXL. MAXm Siemens ®), Insulina (μ UI/mL, quimioluminiscencia, IMMULITE 1000, Siemens ®, Euro, DPC, Llanberis, Reino Unido), péptido C (ng/mL, quimioluminiscencia, IMMULITE 1000, Siemens ®, Euro, DPC, Llanberis, Reino Unido). Hemoglobina glicada A1c (HbA1c % mmol/L, Dimesion RXL. MAXm Siemens ®), colesterol tota, colesterol HDL (c-HDL) y triglicéridos (mg/dL, Hitachi 902 analizar ®, Hitachi, LTD, Tokio Japón). La medición del colesterol LDL (c-LDL) se calculó por medio de la fórmula de Friedewald (colesterol total en mg/dl- c-HDL-triglicéridos en mg/dl / 5). La reserva pancreática se calculó a través del Índice de HOMA- β [(insulina en ayuno en μ UI/ml x 20) / (glucosa en ayuno en mmol/L – 3.5)].

La medición de anticuerpos Anti-GAD65, IA2 fue a través de enzimoimmunoanálisis en microplaca (ELISA, RSR, Ltd, Cardiff, Reino Unido®). Elisa kit for the quantitative determination of autoantibodies for Glutamic Acide Decarboxylase Autoantobody (GAD65) in serum RSR Limited, IA-2 Autoantibody Elisa Kit RSR limited. Las determinaciones se realizaron por duplicado con valores de absorbancia de blanco y patrón dentro de límites establecidos. Para asegurar un buen control de calidad se fijará un coeficiente de variación intra e interserie menor al 20%. Los resultados fueron expresados en unidades por mL (U/mL) de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud. De acuerdo con las indicaciones del fabricante, se consideraron positivos los resultados cuando los niveles de anti-GAD65 fueran mayores a 5 UI/mL y los anti-IA2 mayores de 0.8 UI/mL.

Para la determinación del Anticuerpo contra el transportador 8 de Zinc se utilizó The Kronus Zinc Transporter 8 Autoantibody ELISA Assay (Kronus ®). Este método se calibra en unidades por ml establecido a través de una curva estándar trazado la densidad óptica para 4 calibradores de 10-500 U/mL. De acuerdo con las especificaciones del fabricante se consideraron positivas las muestras con un valor ≥ 15.0 UI/mL.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se obtuvo estadística descriptiva (medidas de concentración y dispersión) de las variables estudiadas. Para las variables con distribución normal a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó medias y desviación estándar y las variables que no tuvieron una distribución normal se utilizó medias e intervalos intercuantiles.

Análisis inferencial

Se realizó el análisis bivariado con X^2 o exacta de Fisher dependiendo de la variable. t de Student para muestras independientes. Se realizó un modelo de regresión logística ajustando para las variables potencialmente confusoras. Los datos fueron capturados y analizados en el paquete estadístico SPSS V 22.0.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con la Ley General de Salud en materia de salud en su artículo 17° en materia de investigación, se considera un estudio con riesgo mínimo, ya que se emplearán procedimientos comunes en exámenes físicos y de diagnóstico rutinarios, implicando una muestra única de sangre venosa con un máximo de 22 mL. Dentro de los riesgos se encuentran: dolor, equimosis y mareo de los pacientes y en caso de presentarse se dará apoyo al paciente para la recuperación de los síntomas.

El estudio respeta los principios éticos universales básicos, generalmente aceptados en la ética de la investigación: Autonomía, beneficencia y Justicia. Además, el estudio cumple con la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de los proyectos de investigación en seres humanos

Los resultados se analizarán de manera grupal, por lo que no se publicarán resultados individuales y se mantendrá la confidencialidad de los pacientes. Sin embargo, los participantes tendrán la opción de conocer los resultados de la valoración realizada, se les otorgará por escrito un resumen sobre los aspectos relevantes de la valoración médica y copia de los resultados de exámenes de laboratorio.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Dado que el estudio involucra la toma de muestras sanguíneas, se realizará el manejo de estas de acuerdo con las normas para el tratamiento de residuos biológico-infecciosos.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio un total de 132 pacientes fueron incluidos en el estudio, con una media de edad de 15.9 ± 1.3 años. El sexo femenino predominó en el 53.8% de los casos, con un tiempo de evolución de la enfermedad de $4.8 \pm .8$ años. Al dividir los grupos por dependencia o no a la insulina, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad, sexo y en las variables antropométricas, pero si en tiempo de duración de la diabetes (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características demográficas por dependencia o no a la insulina

Variable	Total n=132	Sin dependencia a la insulina n= 64	Dependencia a la insulina n= 68	P
Sexo (F [%])	71 (53.8)	34 (53.1)	37 (54.4)	0.51
Edad (años)	15.9 ± 1.3	15.98 ± 1.3	15.9 ± 1.4	0.85
Peso (kg)	73.4 ± 10.1	72.2 ± 10.4	74.5 ± 9.8	0.06
Talla (cm)	165.3 ± 6.4	164.7 ± 6.5	165.9 ± 6.3	0.11
IMC (kg/m ²)	25.2 ± 3.5	24.9 ± 3.8	25.5 ± 3.1	0.09
IMC z-score	$1.39 \pm .44$	$1.35 \pm .46$	$1.43 \pm .41$	0.42
CC (cm)	87.4 ± 9.9	85.1 ± 10.6	89.1 ± 8.9	0.22
Índice C/T	$0.52 \pm .05$	$0.52 \pm .06$	$0.53 \pm .04$	0.08
TAS (mm/Hg)	111.6 ± 11.2	110.3 ± 10.7	112.9 ± 11.6	0.05
TAD (mm/Hg)	72.0 ± 8.5	70.6 ± 7.8	73.3 ± 9.0	0.10
DD (años)	$4.49 \pm .88$	$4.73 \pm .09$	$4.27 \pm .70$	0.03

Medias \pm DE, *t* de Student, χ^2 Pearson

IMC: Índice de masa corporal; CC: Circunferencia de cintura; Índice C/T: índice cintura/talla; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; DD: Duración de la diabetes en años

En las variables metabólicas no se observaron diferencias en cuanto a colesterol total, cHDL, cLDL y triglicéridos. Los pacientes con dependencia de insulina muestran descontrol metabólico con niveles más altos de hemoglobina glucosilada A1c. En cuanto a la reserva de péptido C, es menor en el grupo con dependencia temprana de insulina con un HOMA- β disminuido, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Características metabólicas por dependencia a la insulina

Variable	Total n=132	Sin dependencia a la insulina n= 64	Dependencia a la insulina n= 68	P
CT (mg/dl)	175.9 ± 48.3	164.2 ± 37.4	186.9 ± 54.8	0.540
HDL-C (mg/dl)	44.1 ± 9.3	44.6 ± 7.5	43.6 ± 10.8	0.110
LDL-C (mg/dl)	107.1 ± 41.1	93.3 ± 28.8	118.3 ± 47.5	0.100
TG (mg/dl)	158.5 ± 21.1	148.5 ± 14.0	187.9 ± 19.9	0.180
Glucosa (mg/dl)	197.1 ± 9.9	137.3 ± 6.7	253.3 ± 9.3	0.080
HbA1c (%)	8.8 ± 2.9	6.7 ± 1.6	10.8 ± 2.3	0.001
Insulina (μUI/ml)	11.4 ± 7.7	12.7 ± 9.6	10.3 ± 5.0	0.300
Péptido-C (ng/dl)	1.4 ± 1.3	2.53 ± 1.2	0.41 ± .36	0.001
HOMA-β ^b	85.38 ± 16.6	125.5 ± 15.6	50.9 ± 16.8	0.022

Medias ± DE, t de Student

CT: Colesterol total; HDL-C: Colesterol de alta densidad; LDL-C: Colesterol de baja densidad; TG: Triglicéridos; HbA1c: Hemoglobina glucosilada A1c; HOMA-β: Homeostatic Model Assessment of beta-cell function.

Al dividir los grupos y por la presencia de la autoinmunidad, en el grupo sin dependencia temprana a la insulina se observa diferencias entre el peso y la talla del grupo con anticuerpos positivos, siendo más bajos sus valores en comparación del grupo sin autoinmunidad como se puede observar en el cuadro 3.

Cuadro 3. Características demográficas por dependencia a la insulina y autoinmunidad

Variable	Sin dependencia a la insulina		p	Con dependencia a la insulina		p
	(Ac +) n=16	(Ac -) n=48		(Ac +) n=27	(Ac -) n=41	
Sexo (M [%])	8 (50.0)	26 (54.1)	0.77	16 (59.2)	21 (51.2)	0.51
Edad (años)	15.9 ± 1.4	16.0 ± 1.3	0.87	16.1 ± 1.4	15.7 ± 1.4	0.30
Peso (kg)	67.2 ± 11.2	73.9 ± 9.6	0.04	73.6 ± 8.4	75.0 ± 10.6	0.570
Talla (cm)	161.7 ± 7.6	165.7 ± 5.9	0.03	165.9 ± 6.2	166.0 ± 6.5	0.95
IMC (kg/m ²)	24.8 ± 3.3	25.0 ± 4.0	0.81	25.6 ± 2.5	25.4 ± 3.5	0.85
Z score IMC	1.25 ± 0.4	1.38 ± 0.4	0.31	1.40 ± 0.3	1.46 ± 0.4	0.52
Cintura (cm)	85.9 ± 9.5	85.1 ± 11.1	0.91	89.0 ± 7.1	89.1 ± 10.0	0.95
Índice C/T	0.53 ± .05	0.51 ± .07	0.47	0.53 ± .03	0.53 ± .50	0.94
TAS (mm/Hg)	109.8 ± 10.0	110.5 ± 11.0	0.82	112.3 ± 13.2	113.2 ± 10.6	0.75
TAD (mm/Hg)	70.7 ± 7.0	70.6 ± 8.1	0.96	73.1 ± 10.2	73.5 ± 8.2	0.86
TE Diabetes (a)	4.76 ± .95	4.72 ± .09	0.87	4.38 ± .82	4.19 ± .73	0.34

Medias \pm DE, *t* de Student, χ^2 Pearson

IMC: Índice de masa corporal; ICT: Índice cintura/talla; TAS: Tensión arterial sistólica; TAD: Tensión arterial diastólica; TE: Tiempo de evolución de la diabetes (años)

En las variables metabólicas, no se observan diferencias en cuanto al colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos. A pesar de tener terapia con insulina, los pacientes muestran una glucosa sérica mayor, la cual se ve reflejada en los niveles de hemoglobina glucosilada A1c, siendo estadísticamente significativa esta última. En cuanto a la reserva pancreática, el péptido C es más bajo en grupo con dependencia temprana a la insulina, mostrando un HOMA- β disminuido, lo cual nos habla de una reserva pancreática más baja como puede observarse en el cuadro 4.

Cuadro 4. Características metabólicas de los grupos con dependencia a la insulina y autoinmunidad

Variable	Sin dependencia a la insulina		<i>p</i>	Con dependencia a la insulina		<i>p</i>
	(Ac +) n=16	(Ac -) n=48		(Ac +) n=27	(Ac -) n=41	
CT (mg/dl)	170 \pm 32.9	162.1 \pm 38.8	0.44	189.2 \pm 60.7	185.3 \pm 51.3	0.77
C-HDL (mg/dl)	45.8 \pm 6.9	44.1 \pm 7.7	0.42	42.2 \pm 8.0	44.5 \pm 12.4	0.39
C-LDL (mg/dl)	96.8 \pm 23.2	94.8 \pm 30.6	0.82	124.8 \pm 51.6	114.0 \pm 44.8	0.38
TG (mg/dl)	162.5 \pm 21.1	143.8 \pm 11.0	0.65	172.6 \pm 9.8	164.8 \pm 10.9	0.75
Glucosa (mg/dl)	136.6 \pm 52.8	137.6 \pm 71.6	0.96	246.0 \pm 9.2	264.3 \pm 4.6	0.43
HbA1c (%)	6.8 \pm 1.8	6.3 \pm 0.9	0.91	11.4 \pm 2.6	10.4 \pm 2.1	0.09
Insulina (μ UI/mL)	9.3 \pm 4.8	13.8 \pm 9.5	0.02	9.5 \pm 3.7	10.7 \pm 5.7	0.04
Péptido-C (ng/ml)	2.3 \pm 1.2	2.6 \pm 1.2	0.42	0.30 \pm .25	0.40 \pm .04	0.19
HOMA- β	64.8 \pm 45.3	125.7 \pm 15.8	0.02	25.8 \pm 34.6	61.3 \pm 20.2	0.02

Medias \pm DE, *t* de Student

CT: Colesterol total; C-HDL: Colesterol de alta densidad; C-LDL: Colesterol de baja densidad; TG: Triglicéridos; HbA1c: Hemoglobina glucosilada A1c; HOMA- β : Homeostatic Model Assessment of beta-cell function.

Al analizar las variables metabólicas y dividir las por grupos con base en la presencia o ausencia de anticuerpos. Se observa que, el grupo sin dependencia temprana a la insulina muestra niveles de insulina más bajos ante la presencia de autoinmunidad, así como niveles de HOMA- β más bajos, siendo estadísticamente significativa (Cuadro 4).

El control glucémico en el total de la población estudiada fue de 40.2%, sin embargo, al estratificar por grupos por dependencia temprana o no de insulina, se observa que, el

grupo sin dependencia mostró un mayor porcentaje de control glucémico 81.3%, mientras que el otro grupo a pesar de estar en tratamiento con insulina solo mostro 1.5% de control glucémico ($p=0.000$).

La presencia de anti-GAD65 estuvo positivo en 39 pacientes (29.5%) y al dividir los grupos por dependencia temprana o no de insulina se encontró que, en el grupo con dependencia temprana a la insulina, el anti-GAD65 fue positivo en el 38.2% de los casos, siendo estadísticamente significativo como puede observarse en el cuadro 5.

Cuadro 5. Frecuencia de positividad de los anticuerpos

Variable	Población total N=132	Sin dependencia de insulina n= 64	Con dependencia a la insulina n= 68	P
Anti-GAD 65	39 (29.5%)	13 (20.3%)	26 (38.2%)	0.02
Anti-IA2	24 (18.2%)	8 (12.5%)	16 (23.5%)	0.07
Anti-Zn8T	21 (15.9)	3 (4.7%)	18 (26.5%)	0.00
GAD65 + IA2	20 (15.2%)	5 (7.8%)	15 (22.1%)	0.02
GAD65 + Zn8T	15 (11.4%)	3 (4.7%)	12 (17.6%)	0.01
IA2 + Zn8T	12 (9.1%)	2 (3.1%)	10 (14.7%)	0.02
Tres anticuerpos	12 (9.1%)	2 (3.1%)	10 (14.7%)	0.02

X² Pearson

Anti-GAD65: anticuerpo contra descarboxilasa de ácido glutámico; Anticuerpo-IA2: anticuerpo tirosinfosfatasa 2; Anti-Zn8T: anticuerpo contra el transportador 8 de Zinc.

En el análisis multivariado se encontró que la presencia del anti-GAD65 positivo confiere un OR=2.42 (IC 95% 1.04-5.60, $p=0.026$), ajustado por sexo, IMC y tiempo de evolución de la diabetes. Para el anti-IA2 se observa un OR de 1.55, sin embargo, no es estadísticamente significativo. En cuanto al anti Zn8T confirió un OR más elevado en comparación a los otros dos anticuerpos, siendo de 7.32 como puede verse en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Estimación de riesgos de acuerdo con los anticuerpos

Variable	Odds Ratio Requerimientos tempranos n=132	
	OR adj (IC a 95%)	P
Anti-GAD65	2.42 (1.112- 5.303)	0.026
Anti-IA2	1.55 (0.859- 2.818)	0.101
Anti-Zn8T	7.32 (2.039-26.279)	0.002
Anti-GAD65 + Anti-IA2	3.34 (1.136- 9.814)	0.028
Anti-GAD65 + Anti-Zn8T	4.35 (1.168-16.248)	0.028
Anti-IA2 + Anti- Zn8T	5.34 (1.123-25.431)	0.035
Anti-GAD65 + Anti-IA2 + Anti-Zn8T	5.34 (1.123-25.431)	0.035

Ajustado por edad, IMC y TE de la diabetes.

DISCUSION

En el presente estudio, el 51,5% de los pacientes pediátricos con diabetes mellitus tipo 2 presentaron una dependencia más temprana al tratamiento con insulina, siendo un tiempo menor en comparación con la población adulta en donde se observan periodos superiores a los 6 años de evolución de la enfermedad tal y como se refiere en el grupo de UKPDS en el Reino Unido.¹⁰

Al dividir los grupos por dependencia temprana a la insulina y por autoinmunidad positiva se observa que, el grupo sin insulino terapia muestra un peso y una talla más baja en comparación al grupo con dependencia, sin embargo, la presencia de anticuerpos positivos fue más frecuente. No obstante, el IMC, no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, muy diferente a lo reportado por Turner y colaboradores (1997), en donde se describe que, los pacientes con dependencia temprana a la insulina mostraron un IMC más bajo.¹⁰

En las variables metabólicas, se reporta un control glucémico de 40.2%, el cual es mayor a lo reportado en la literatura, donde el control glucémico oscila entre el 20-25%.^{8,12} El perfil lipídico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, sin embargo, se observa niveles más bajos de insulina en los pacientes sin dependencia

temprana a la insulina y con presencia de positividad de los anticuerpos, así como niveles más bajos de péptido-C, lo que correlaciona con una menor producción endógena de insulina, misma que al realizar la determinación de HOMA- β , se muestran una menor reserva pancreática de insulina ante la presencia de autoinmunidad, siendo estadísticamente significativo, similar a lo reportado por Bottazzo y colaboradores.¹¹

La frecuencia de positividad de los anticuerpos fue diferente a lo reportado en la literatura, donde el Anti-GAD65 fue el que predominó en el 29.5%, siendo más alto a lo reportado en el estudio UKPDS del 6% y del estudio TODAY con el 5.9%.^{8,10} En cuanto al anti-IA2, estuvo positivo en el 18.2%, superior a lo reportado por Botazzo del 2.2% en el total de su población, sin embargo, estos porcentajes variaban al estratificar los grupos por rangos de edad, siendo mayor en los grupos más jóvenes.¹¹ La positividad de los dos anticuerpos fue del 15.2% en el total de la población, siendo superior a lo reportado en el estudio TODAY del 3.9%.⁸

El anti-GAD65 fue el anticuerpo más frecuente en el grupo con dependencia temprana a la insulina 38.2% versus 20.3% en el grupo sin dependencia a la insulina, siendo estadísticamente significativa, similar a lo reportado por Turner y colaboradores del 38.0%.¹⁰

El anti-IA2 también fue frecuente en el grupo con dependencia temprana a la insulina 23.5% versus 12.5%. No obstante, la positividad fue más baja a lo reportado por Buzzetti y colaboradores, los cuales, al estratificar por edad, el grupo más joven (<45 años) mostró un porcentaje del 93%.¹³ La combinación de positividad de los anticuerpos muestra que, el anti-GAD65 y anti-IA2 fue la más prevalente en el grupo de dependencia a la insulina de 23.5%, sin embargo, al comparar los datos del estudio UKPDS, se muestra el 100% en el grupo menor de 45 años, pero en el grupo mayor de esta edad, el porcentaje baja al 40%.

La razón de Momios para el anti-GAD65 fue de 2.42, siendo estadísticamente significativo, pero éste se encontró inferior lo reportado por Turner y colaboradores con un OR de 13.0, pudiéndose deber probablemente al tamaño de la muestra. En cuanto al anti-IA2 se muestra un OR menor (1.55), siendo más bajo a lo referido por Bottazzo que fue del 13.7. Finalmente, a pesar de que la positividad del anti-Zn8T fue menor, su presencia confiere un riesgo mayor en comparación a los otros dos anticuerpos, siendo un OR de 7.32. Al tener la positividad de dos anticuerpos, la combinación del anti-IA2 y anti-Zn8T

positivo confiere un OR de 5.34, mismo que permanece al estar los tres anticuerpos positivos.

LIMITACIONES

Si bien nuestro estudio proporciona información valiosa sobre el papel de la positividad de los anticuerpos en la caracterización de los fenotipos de DM2 y la predicción de la dependencia temprana de la insulina, existen varias limitaciones que deben tenerse en cuenta. En primer lugar, el tamaño de la muestra puede no ser lo suficientemente grande como para generalizar los hallazgos a todos los pacientes pediátricos con DM2, y se necesitan estudios más amplios para confirmar estos resultados. En segundo lugar, la naturaleza retrospectiva del estudio, por lo que es necesario estudios longitudinales para vigilar los cambios a lo largo del tiempo y establecer de una manera más fuerte la causalidad. En tercer lugar, el estudio se realizó en un único hospital terciario, lo que puede limitar la generalización de los hallazgos a otras poblaciones o entornos sanitarios. Cuarto lugar, se debe reconocer que, algunos de los casos pueden estar mal clasificados y ser DM1, reconociéndose que, no hubo casos con péptido-C bajo y con anticuerpos positivos o MODY, la cual se trató de minimizar esa posibilidad con la ausencia de historia familiar de diabetes de inicio temprano, aunque existen en este aspecto mutaciones de novo.

Finalmente, no tomamos en cuenta posibles factores de confusión, como la predisposición genética, los factores del estilo de vida y las afecciones médicas concurrentes, que podrían influir en el desarrollo de positividad de anticuerpos y dependencia de insulina. A pesar de estas limitaciones, nuestros hallazgos sugieren que anticuerpos como anti-GAD65, anti-IA2 y anti-Zn8T son marcadores valiosos en el diagnóstico de la DM2, lo que destaca la necesidad de estudios más completos en esta área.

Interacciones con fármacos y antígenos: existe la necesidad de explorar posibles interacciones entre el panel de anticuerpos y diversos fármacos, antígenos naturales o antígenos adquiridos presentes en el cuerpo del paciente. Aún no está claro si los medicamentos o los antígenos externos podrían influir en la expresión o los niveles de estos autoanticuerpos, afectando así su valor diagnóstico y pronóstico. Interacciones farmacológicas: algunos medicamentos pueden modular las respuestas inmunitarias o

interferir con la producción de anticuerpos, lo que podría afectar la precisión del panel autoinmune. Antígenos naturales y adquiridos: la presencia de otros antígenos, ya sean naturales o adquiridos a través de infecciones, podría afectar la respuesta del sistema inmunológico, lo que provocaría falsos positivos o negativos en las pruebas de anticuerpos.

A pesar de estas limitaciones, nuestros hallazgos sugieren que anticuerpos como anti-GAD65, anti-IA2 y anti-Zn8T son marcadores valiosos en el tratamiento de la DM2. Estos anticuerpos resaltan la necesidad de realizar estudios más completos para comprender sus interacciones y mejorar las estrategias de manejo de la diabetes de manera efectiva.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que, los pacientes que viven con diabetes mellitus tipo 2 muestran un agotamiento temprano de las reservas de insulina endógena, ya que más del 50% necesitan la aplicación de insulina exógena como piedra angular de su tratamiento. La positividad de los anticuerpos estuvo asociado a un fenotipo de agotamiento de la reserva de la célula β y, por ende, a niveles más bajos de insulina, confirmando un riesgo mayor a la dependencia temprana de insulina. El anti-GAD65 fue el más prevalente, sin embargo, al estar positivo el anti-Zn8T fue el que confirió un riesgo mayor de dependencia temprana a la insulina, que su combinación con el anti-IA2 positivo, confiere un riesgo mayor. Por lo tanto, pueden ser estos anticuerpos una herramienta útil en el abordaje de la DM2 para caracterizar más específicamente al paciente y que al estar positivos se podrá intensificar más la educación en diabetes y en el control glucémico más estrecho a fin de evitar el agotamiento más temprano de la célula β , así como de retrasar las complicaciones crónicas con las que se acompaña la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thomas CC, Philipson LH. Update on diabetes classification. *Med Clin North Am* 2015; 99:1-16.
2. Libman I, Haynes A, Lyons S, Pradeep P, Rwagasor, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2022;23: 1160-1174
3. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of care in diabetes-2024. *Diabetes Care*. 2024;47(suppl 1): S20-S42.
4. World Health Organisation. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation. Geneva, Switzerland; 2006.
5. Pulgaron ER, Delamater AM. Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment. *Curr Diab Rep* 2014;14(8):508.
6. Song SH, Hardisty CA. Early onset Type 2 diabetes mellitus: an increasing phenomenon of elevated cardiovascular risk. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6:315-322.
7. Zeitler P, Fu J, Tandon N, et al. Type 2 diabetes in the child and adolescent. *Pediatric Diabetes* 2014;5(suppl 20):26-46.
8. Mayer-EJ, Lawrence JM, Dabelea, et al. Incidence trends of type 1 diabetes and type 2 diabetes among youths, 2002-2012. *N Engl J Med* 2017;376(15):1419-1429.
9. Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, et al. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatrics* 2014;133(4):1258-1266.
10. Nadeau KJ, Anderson BJ, Berg EG, et al. Youth-onset type 2 diabetes consensus report: current status, challenges, and priorities. *Diabetes Care* 2016;39(9):1635-1642.
11. DeFronzo RA, Eldar R, Muhammad AG. Pathophysiology Approach to Therapy in Patients with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2013;36(suppl2): s127-s138.
12. Schwartz S, Epstein S, Corkey B, et al. The Time Is Right for a New Classification System for Diabetes: Rationale and Implications of the β -Cell-Centric Classification Schema. *Diabetes Care* 2016; 39:179-186.
13. Fu JF, Liang L, Gong CX, et al. Status and trends of diabetes in Chinese children;

- analysis of data from 14 Medical Centers. *World J Pediatr* 2013;9(2):127-134.
14. Zeitler P, Arskanian S, Fu J, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Type 2 diabetes mellitus in youth. *Pediatric Diabetes* 2018;19(suppl27):28-46
 15. Gungor N, Bacha F, Saad R, et al. Youth type 2 diabetes: insulin resistance, beta-cell failure, or both? *Diabetes care* 2005;28(3):638-644.
 16. Druet C, Tubiana RN, Chevenne D, et al. Characterization of insulin secretion and resistance in type 2 diabetes of adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(2):401-404.
 17. Dabela D, Stafford M, Dayer-Davis EJ, et al. Association of type 1 diabetes vs type 2 diabetes diagnosed during childhood and adolescence with complications during teenage years and young adulthood. *JAMA* 2017;317(8):825-835.
 18. Copeland KC, Zeitler P, Gefner M, et al. Characteristics of adolescents and youth with recent-onset type2 diabetes. The TODAY cohort at baseline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(1):159-167.
 19. TODAY Study Group. Effects of metformin, metformin plus rosiglitazone, and metformin plus lifestyle on insulin sensitivity and beta-cell function in TODAY. *Diabetes Care* 2013;14(2):106-111.
 20. Sabauste A, Giani R, Chang AM, et al. Islet Autoimmunity Identifies a Unique Pattern of Impaired Pancreatic Beta-cell Function, Markedly Reduce Pancreatic Beta-cell Mass and Insulin resistance in Clinically Diagnosed Type 2 Diabetes. *Plos One* 2014; 9(9):1-10.
 21. Badaru A, Pihoker C. Type 2 Diabetes in Childhood: Clinical Characteristics and Role of β -Cell Autoimmunity. *Curr Diab Rep* 2012; 12:75-81.
 22. Cruz M, Torres M, Aguilar-Herrera B, et al. Type 2 Diabetes Mellitus in Children-An Increasing Health Problem in Mexico. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2004; 17:183-190.
 23. Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler AG, Schatz D, Atkinson MA, Eisenbarth GS. Proposed guidelines on screening for risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2001; 24:398-403.
 24. Baekkeskov S, Aasloot MJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, et al. Identification of the 64k autoantigen in insulin-dependent diabetes as GABA-synthesizing glutamic acid decarboxylase. *Nature*. 1990; 327:151-6.
 25. Drash AL, Arskanian SA. Can insulin-dependent diabetes mellitus be cured or prevented? *Pediatr Clin North Am*. 1990; 37:1467-87.

26. Reijonen H, Concannon P. Genética de la diabetes tipo 1. En: Kahn CR, Weir GC, King GL, Jacobson AM, Moses AC, Smith RJ, editors. *Joslin's Diabetes mellitus*. 14 ed. Boston: Lippincott/Williams and Wilkins; 2005. p. 355-70.
27. Velloso LA, Kaempe O, Hallberg A, Christmanson L, Betsholtz C, Karlsson FA. Demonstration of GAD-65 as the main immunogenic isoform of the glutamic acid decarboxylase in Type-1 diabetes and determination of autoantibodies using a radioligand produced by eukaryotic expression. *J Clin Invest*. 1993; 91:2084-90.
28. Verge C.F., et al. Prediction of type 1 Diabetes in First-Degree Relatives Using a Combination of Insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 Autoantibodies. *Diabetes* 1996, 45:926-933.
29. Huici, M., Herrera, M., et al. Estudio de anticuerpos en el inicio de la diabetes autoinmune en nuestro medio mediante ELISA. *Rev Lab Clin* 2011;4(2):77-83.
30. Roohani N., et al. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of research in Medical Sciences* 2013; 18:144-157.
31. Plum LM, et al. The essential toxin: impact of zinc on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2010;7 :1342-1365.
32. Davidson HW, Wenzlau JM, O'Brien RM. Zinc transporter 8 (ZNT8) and beta cell function. *Trends Endocrinol Metab* 2014; 25(8):415-424.
33. Pilla SJ, Balsasubramanyam A, Knowler WC, et al. Islet Autoantibody Positivity in Overweight and Obese Adults with Type 2 Diabetes. *Autoimmunity* 2018; 51 (8): 408-416.
34. Hamilton WE, Palmer S, Charlton B, Slattery R. Beta cell MHC class I is a late requirement for diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100:6688-6693.
35. Rajagopalan G, Kudva YC, Chen L, Wen L, David CS. Autoimmune diabetes in HLA-DR3/DQ8 transgenic mice expressing the co-stimulatory molecule B7-1 in the β cells of islets of Langerhans. *Int Immunol* 2003;15(9):1035-1044.
36. Green EA, Gorelik L, McGregor CM, Tran EH, Flavell RA. CD4+, CD25+ T regulatory cells control anti-islet CD8+ T cells through TGF β -TGF β receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100(19):10878-10883.
37. Panagiotopoulos C, Qin H, Tan R, Verchere CB. Identification of a beta-cell specific HLA class I restricted epitope in type 1 diabetes. *Diabetes* 2003;52 (11):2647-2651.
38. Vega, G., Hernández, A, Hernández, H. Mecanismos de lesión Inmunitaria en diabetes mellitus tipo 1. *Rev Med Inst Seg Soc* 2009;47(5):515-522.

39. Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler AG, Schatz D, Atkinson MA, Eisenbarth GS. Proposed guidelines on screening for risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2001; 24:398-403.
40. Razack NN, Wherrett DK: Type 1 diabetes: New horizons in prediction and prevention. *Paediatr Child Health*. 2005; 10:3.
41. Umpaichitra V, Banerji MA, Castells S. Autoantibodies in children with type 2 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2002;15 (suppl1):525-530.
42. Klingensmith GJ, Pyle L, Aralanian S, et al. The presence of GAD and IA-2 antibodies in youth with type 2 diabetes phenotype: results from TODAY Study. *Diabetes Care* 2010;33(9):1970-1975.
43. Turner R, Stratton I, Horton V, et al. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. *Lancet* 1997; 350:1288-1293.
44. Bottazzo GF, Bosi E, Cull CA, et al. IA-2 antibody prevalence and risk assessment of early insulin requirement in subjects presenting with type 2 diabetes. *Diabetologia* 2005; 48:703-708.
45. Klingensmith GJ, Pyle L, Arlanian S. The presence of GAD and IA-2 antibodies in youth with type 2 diabetes phenotype; results from TODAY study. *Diabetes Care* 2010;33(9):1970-1975.
46. Reinehr T, Schober E, Wiegand S, et al. β -cell autoantibodies in children with type 2 diabetes mellitus: subgroup or misclassification?. *Arch Dis Child* 2006; 91: 473-477.
47. Redondo M, Rodriguez LM, Escalante M, et al. Types of pediatric diabetes mellitus defined by anti-islet autoimmunity and random C-peptide at diagnosis. *Pediatric Diabetes* 2013; 14:333-340.
48. Buzzetti R, Spoletini ML, Zampetti S, et al. Tyrosine Phosphatase- Related Islet Antigen 2_(256.760) Antibodies, the only marker of Islet Autoimmunity that increasing the degree of BMI in obese subject with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2015; 38:513-520.

ANEXOS



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: PRESENCIA DE ANTICUERPOS POSITIVOS CONTRA LA CÉLULA BETA PARA LA PREDICCIÓN DE REQUERIMIENTO TEMPRANO DE INSULINA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

Se ha considerado a su hijo(a) para la realización de un estudio de investigación en el que se busca la presencia de anticuerpos o defensas que predispongan un comportamiento más agresivo de la diabetes mellitus y al requerimiento más temprano de la aplicación de insulina.

En el estudio, se requiere que su hijo(a) acuda en a la Clínica de Diabetes (CANDI) del Hospital Infantil de México Federico Gómez, para llevar a cabo una serie de estudios, que a continuación le explicamos:

- Su hijo(a) deberán acudir el día de la cita a la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México Federico Gómez, con un ayuno de 12 horas, es decir, deberá cenar o tomar su último alimento el día anterior a las 19:00 horas, posterior a ello, sólo podrá ingerir agua simple.
- El día de la cita, se obtendrá una muestra de sangre de su antebrazo con un volumen total de 22 mL para la determinación de exámenes de laboratorio. Posteriormente, será valorado por un endocrinólogo pediatra quien realizará una historia clínica que consiste en un interrogatorio sobre sus antecedentes médicos y una exploración física completa.

En su consulta de seguimiento habitual de la clínica de diabetes, se le entregará por escrito un resumen de los resultados de laboratorio (glucosa, perfil de lípidos, insulina, péptido C y determinación de anticuerpos pancreáticos (anti-GAD65, IA2 y AntiZn8T).

Los riesgos de este estudio surgen de la necesidad de obtener muestras de sangre. Las punciones venosas pueden causar dolor y posiblemente moretones. La extracción de muestras de sangre puede causar ligero mareo que puede remediarse con bajar la cabeza y alzar las piernas.

No habrá ningún beneficio para su hijo(a) por su participación con este estudio. Sin embargo, la información obtenida ayudará a entender más a la enfermedad y buscar las estrategias para una mejor atención y control de la diabetes en los niños y adolescentes. Por participar en este estudio usted y su hijo(a) no recibirán ninguna compensación monetaria.

Durante el estudio, el médico responsable del mismo responderá a cualquier duda que usted o su hijo(a) tengan acerca del procedimiento y los riesgos, así como los resultados del estudio. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y una vez aceptada su participación, ésta se puede cancelar en cualquier momento sin que por ello se afecte la atención de usted o su familia en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Por medio de la presente, aceptamos en forma voluntaria que nuestro hijo (a) participe en el estudio de investigación. Hemos leído de forma cuidadosa este documento y entendemos todo lo que implica, además se nos ha asegurado que las muestras de sangre que se tomen serán utilizadas únicamente con los fines propuestos en esta investigación y que los resultados nos serán notificados y serán totalmente confidenciales. En caso de que el paciente y/o el tutor no sepan escribir se colocará la huella digital.

ACEPTAMOS: _____ **SÍ** _____ **NO**

Nombre y firma del padre

Nombre firma de la madre

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma de testigo 2

Dirección _____

Dirección _____

Nombre y firma del investigador

Fecha: _____

Responsable

Dr. Mario Molina Díaz

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. CP 06720. México DF.

Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 2167



CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: PRESENCIA DE ANTICUERPOS POSITIVOS CONTRA LA CÉLULA BETA PARA LA PREDICCIÓN DE REQUERIMIENTO TEMPRANO DE INSULINA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

En el Hospital Infantil de México estamos realizando un estudio de investigación en niños y adolescentes con diabetes mellitus tipo 2, lo que nos permite aprender más sobre este tipo de enfermedades. Por lo tanto, te estamos invitando a participar en este proyecto para evaluar la condición actual de tu enfermedad.

Si decides participar en el estudio, deberás asistir para que se te tomen muestras de sangre en ayuno en la primera cita. Se tomará una muestra de sangre de tu brazo. Además serás valorado por un médico para que contestes algunas preguntas acerca de tus antecedentes de salud. El médico te realizará un examen físico y medirá tu peso, estatura, presión arterial y cintura.

Los riesgos de este estudio están dados porque se necesita tomar muestras de sangre, lo cual puede ser doloroso o causarte moretones. Este estudio nos proporcionará más conocimientos acerca de la diabetes mellitus en niños, los cuales podemos utilizar para transmitirlos a otros médicos y ayudar a otros niños para prevenir que padezcan esta enfermedad o sus complicaciones.

Cuando hayamos terminado el estudio escribiremos un reporte sobre los resultados y lo que hemos aprendido. En este reporte no aparecerá tu nombre y nadie sabrá que participaste en el estudio. Puedes preguntar todas las dudas que tengas en cualquier momento y eres libre de participar o no según sea tu deseo. Nosotros seguiremos dándote la atención. Si decides participar en el estudio escribe tu nombre y firma.

ACEPTAMOS: _____ SÍ _____ NO

Nombre y firma del padre

Nombre firma de la madre

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma de testigo 2

Dirección _____

Dirección _____

Nombre y firma del investigador

Fecha: _____

Responsable

Dr. Mario Molina Díaz

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. CP 06720. México DF.

Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 2167