



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO COMO FACTOR DE RIESGO
CARDIOVASCULAR EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A

ANDREA CACHO CASTILLO

DIRECTORA DE TESIS

D.C. ANEL GOMEZ GARCIA
CIBIMI-IMSS



Morelia, Mich. Mayo del 2016

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación Biomédica del IMSS (CIBIMI) de la ciudad de Morelia, Michoacán. Se agradece el apoyo de laboratorio Central de Análisis Clínicos del municipio de Múgica, Michoacán del cual se obtuvieron las 180 muestras biológicas para ser procesadas y estudiadas dentro del CIBIMI. También se agradece el apoyo del sistema único de beneficiarios de educación superior (SUBES) por la beca de titulación otorgada.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por permitirme llegar hasta aquí, por darme la oportunidad de terminar mi carrera de la cual nunca me arrepentiré de haber elegido.

A mi padre Humberto que siempre fue mi ejemplo a seguir, su amor a la carrera de Químico Farmacobiología me impulsó a tomar la decisión de elegir esta profesión y algún día poder llegar a ser una gran profesionalista como él, y también por todo el amor y apoyo que siempre me ha dado.

A mi madre Ana María, por todo su amor, comprensión y sobre todo su apoyo en todo momento.

A mis amigos que siempre estuvieron conmigo a lo largo de estos 5 años, gracias por todo su cariño y sobre todo por haberme brindado su amistad.

A la doctora Anel por su paciencia y dedicación para lograr sacar este proyecto adelante, pero sobre todo por darme la confianza y la oportunidad de realizarlo.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VII
ABREVIATURAS.....	IX
GLOSARIO.....	X

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	11
I. ANTECEDENTES	13
I.1 Origen del megacariocito.....	13
I.2 Trombopoyetina	18
I.3 Plaquetas	19
I.4 Volumen plaquetario medio (VPM).....	21
I.5 Medición del volumen plaquetario medio	24
I.6 Diabetes Mellitus	26
I.7 Riesgo Cardiovascular	33
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	35
III. JUSTIFICACIÓN	36
IV. HIPÓTESIS	37
V. OBJETIVO GENERAL	37
V.1 Objetivo específico	37
VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	38
VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	49
IX. RESULTADOS.....	51
X. DISCUSIÓN	61

XI. CONCLUSIONES	65
XII. RELACION DE ANEXOS	66
XIII. BIBLIOGRAFIA.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Origen y desarrollo del megacariocito	17
Figura 2. Score de riesgo.	32
Figura 3. Volumen Plaquetario Medio en los Grupos de estudio.....	55
Figura 4. Concentraciones del VPM de acuerdo a los factores de riesgo cardiovascular en pacientes con y sin diabetes.	56
Figura 5. Correlación entre el Volumen plaquetario medio y la glucosa sérica en los pacientes en estudio.	57
Figura 6. Correlación entre el Índice aterogénico y la glucosa sérica en los pacientes en estudio.	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadios morfológicos del megacariocito.	15
Tabla 2. Valores de referencia de niveles de glucosa de acuerdo a la ADA	28
Tabla 3. Conversión de factores para la determinación de las concentraciones de glucosa.	28
Tabla 4. Características clínicas de los pacientes en estudio	51
Tabla 5. Muestra las características bioquímicas de los pacientes con y sin Diabetes motivo del estudio.	52
Tabla 6. Frecuencias de las alteraciones de los metabolitos en el perfil de lípidos de los grupos en estudio.	53
Tabla 7. Categoría de Riesgo Cardiovascular en los grupos de estudio	59
Tabla 8. Categoría de Riesgo Cardiovascular en el Grupo DM de acuerdo al VPM	59
Tabla 9. Categoría de Riesgo Cardiovascular en el Grupo control de acuerdo al VPM	60

RESUMEN

Introducción: El volumen plaquetario medio (VPM) es el significado geométrico del volumen plaquetario en un sistema tecnológico de impedancia. Es un indicador de la activación plaquetaria y se ha reportado que aumenta en el infarto agudo de miocardio y los síndromes coronarios agudos.

Objetivo: Investigar el volumen plaquetario medio como factor de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus.

Material y métodos: Estudio transversal comparativo. A 180 pacientes se les realizó historia clínica completa y se les colectó 12 ml de sangre venosa para realizar glucosa sérica, perfil de lípidos (colesterol total, triglicéridos, Lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad), lípidos totales, índice aterogénico y biometría hemática. Se les calculó el riesgo cardiovascular mediante ATPIII. A los pacientes se les dividió en 2 grupos: grupo control (pacientes no diabéticos) y grupo problema (grupo DM). El análisis de los datos se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 18.0.

Resultados: El grupo DM tuvo edad mayor que el grupo control (Grupo DM: 56.3 ± 11.97 vs Grupo control 47.99 ± 19.44 ; $P=0.001$) En el Grupo DM el 100% de los pacientes tuvieron una circunferencia de cintura elevada y en el grupo control el 83.3%. El VPM fue más alto y estadísticamente significativo en el Grupo DM (9.63 ± 1.03 fL) en comparación con el grupo control (9.01 ± 0.90 fL). Se encontró una frecuencia de VPM alto (≥ 10 fL) en el Grupo DM de 12.8% y en el Grupo control de 16.1%. Se encontró una mayor frecuencia de riesgo cardiovascular elevado en

el grupo DM 12.4% vs Grupo control 10.5%. No se encontró la asociación de riesgo del VPM con la variable riesgo cardiovascular en el Grupo DM (RR: 0.453 IC95%: 0.148-1.391. X^2 2.272, P=0.167) ni en el Grupo control (RR: 0.862 IC95%: 0.318-2.336. X^2 0.088, P=0.767).

Conclusiones: El VPM no se encontró ser un factor de riesgo cardiovascular en los pacientes en estudio. La frecuencia de riesgo cardiovascular y el VPM por arriba de 10 fL fue en el Grupo con DM del 9.1% y en el grupo control de 11.9%. Se encontró un incremento del VPM en aquellos pacientes con DM con los factores de riesgo obesidad, hipertensión arterial y glucosa. Se requieren de más estudios longitudinales donde se les del seguimiento a estos pacientes para poder asociar de manera más fidedigna el VPM como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

Palabras clave: Plaqueta, Volumen plaquetario medio, Diabetes mellitus, hipertensión arterial, Riesgo cardiovascular.

ABSTRACT

Introduction: The mean platelet volumen (MPV) is the geometric meaning of platelet volume in a technological system impedance. It is an indicator of the platelet activation and it has been reported that increases in the acute myocardial infarction and acute coronary syndromes.

Objective: To investigate if the mean platelet volume as a cardiovascular risk factor in patients with diabetes mellitus.

Material and Methods: Comparative cross-sectional study. To 180 patients were performed a complete history and they collected 12 ml of venous blood to perform serum glucose, lipid profile (total cholesterol, triglycerides, Lipoproteins high, low and very low density), total lipids. They calculated the cardiovascular risk by ATPIII. Patients were divided into 2 groups: a control group (non-diabetic patients) and group problem (DM group). The analysis of the data was performed in the statistical package SPSS version 18.0.

Results: The group DM was older than the control group (Group DM: 56.3 ± 11.97 vs control group 47.99 ± 19.44 ; $p=0.001$) in the Group DM 100 per cent of the patients had a large waist circumference and in the control group the 83.3%. The MPV was higher and statistically significant in the Group DM (9.63 ± 1.03 fL) compared with the control group (9.01 ± 0.90 fL). It was found a frequency of MPV high (≥ 10 fL) in the Group DM 12.8% and in the control group of 16.1%. It was found a greater frequency of high cardiovascular risk in the group DM 12.4% vs control group 10.5%. Was not found the association of risk of MPV with the

variable cardiovascular risk in the DM group (RR 0.453 CI95%: 0.148-1.391. χ^2 2,272, P=0.167) nor in the control group (RR 0.862 CI95%: 0.318-2.336. χ^2 0.088, P=0.767).

Conclusions: The MPV was not found to be a factor of cardiovascular risk in the patients under study. The frequency of cardiovascular risk and the MPV above 10 fL was in the group with DM of 9.1% and in the control group of 11.9%. It was found an increase of the MPV in those patients with DM with the risk factors obesity, high blood pressure and glucose. They require more longitudinal studies where they were on the follow up to these patients to be able to associate of most reliable way the MPV as a risk factor for the development of cardiovascular disease.

Key words: Platelet, Mean Platelet Volume, diabetes mellitus, arterial hypertension, cardiovascular risk.

ABREVIATURAS

DM	-----	Diabetes Mellitus
VPM	-----	Volumen Plaquetario Medio
COL	-----	Colesterol total
TG	-----	Triglicéridos
HDL	-----	Lipoproteína de alta densidad
LDL	-----	Lipoproteína de baja densidad
VLDL	-----	Lipoproteína de muy baja densidad
HTA	-----	Hipertensión Arterial
IMC	-----	Índice de Masa Corporal
CC	-----	Circunferencia de Cintura
PAS	-----	Presión Arterial Sistólica
PAD	-----	Presión Arterial Diastólica

GLOSARIO

Plaqueta: Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados que se producen como consecuencia de la ruptura de los megacariocitos de la médula ósea, las cuales son células extraordinariamente grandes (20 mm de diámetro), con un núcleo altamente poliploide y un citoplasma subdividido por capas de membranas onduladas.

Volumen plaquetario medio: Es el significado geométrico del volumen plaquetario en un sistema tecnológico de impedancia, es medido por contadores celulares automatizados con base en impedancia y efecto óptico.

Diabetes mellitus: Es una alteración metabólica de etiología múltiple caracterizada por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas, con una secuencia de defectos en la secreción o la acción de la insulina, o una combinación de ambas.

Riesgo cardiovascular: Se define como la probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular (enfermedad coronaria, ataque cerebro vascular o arteriopatía periférica) en un período de tiempo de diez años.

INTRODUCCIÓN

El VPM es el significado geométrico del volumen plaquetario en un sistema tecnológico de impedancia, es medido por contadores celulares automatizados con base en impedancia y efecto óptico, pudiéndose modificar con el anticoagulante ácido etilaminotetracético (EDTA), la temperatura, el tiempo de almacenamiento de la muestra y su lectura idealmente en la primera hora después de tomar la muestra, de preferencia durante los primeros 30 minutos después de la extracción. El VPM mide el volumen plaquetario, el cual está en relación directa con su tamaño. Se mide en fentolitros (fL) y su valor normal es de 7.5 a 10 fL.

Actualmente, se reconoce al volumen plaquetario medio como un marcador de riesgo útil para la predicción de tromboembolismo pulmonar y otros tipos de trombosis; de forma independiente con lo antes mencionado, el volumen plaquetario medio también puede estar elevado en los pacientes con consumo de tabaco, obesidad, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus e hiperlipidemia.

La DM es una alteración metabólica de etiología múltiple caracterizada por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas, con una secuencia de defectos en la secreción o la acción de la insulina, o una combinación de ambas ⁽³⁹⁾. La diabetes de tipo 1 (DM1) se debe a la ausencia prácticamente completa de producción pancreática de insulina endógena, mientras que en la diabetes tipo 2 (DM2) el aumento de glucosa en sangre se debe a una combinación de factores como la predisposición

genética, una dieta poco saludable, la inactividad física y el aumento de peso con distribución central, que producen complejos procesos fisiopatológicos. La DM se asocia con el desarrollo de daños orgánicos específicos a largo plazo producidos por la enfermedad microvascular (complicaciones diabéticas). Los pacientes con diabetes también presentan un alto riesgo de enfermedad cardiovascular, cerebro vascular y periférica. Las concentraciones de glucosa en sangre se mantienen normalmente en un rango muy estrecho, usualmente entre 70 y 120 mg/dl.

El riesgo cardiovascular se define como la probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular (enfermedad coronaria, ataque cerebro vascular o arteriopatía periférica) en un período de tiempo de diez años. La valoración del riesgo cardiovascular permite conocer aquellos grupos en los que se deben incrementar las actividades de prevención y las intervenciones farmacológicas y no farmacológicas dirigidas a disminuir la morbimortalidad por enfermedad cardiovascular. La hipertensión arterial, la hipercolesterolemia y el tabaquismo son los tres factores de riesgo cardiovascular modificables de mayor relevancia. La diabetes, el sedentarismo, la obesidad o el sobrepeso y el consumo excesivo de alcohol son otros factores que se consideran como modificables o controlables (50). La hipertensión arterial es un factor de riesgo para enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, enfermedad cerebro vascular e insuficiencia renal (5).

I. ANTECEDENTES

I.1 Origen del megacariocito

El origen de las plaquetas a partir de los megacariocitos se conoce desde 1906⁽¹⁾ pero el proceso de la producción plaquetaria (denominado trombopoyesis o trombocitopoyesis) continúa siendo enigmático. Los megacariocitos son células de la medula ósea muy grandes, poliploides cuya baja prevalencia ha hecho que su investigación sea difícil. Durante las últimas dos décadas, la clonación *in vitro* de los progenitores megacariocíticos, la producción de anticuerpos monoclonales que identifican específicamente a los megacariocitos y sus constituyentes, y las nuevas técnicas moleculares ha avanzado el conocimiento sobre la biología del megacariocito.

Los megacariocitos normalmente representan aproximadamente el 0.05% al 0.1% de todas las células nucleadas de la medula ósea humana, pero su número aumenta a medida que aumenta la demanda de plaquetas. A diferencia del eritrocito con unos diámetros de 20 μm a 25 μm y volúmenes de 4.700 fL $\geq$ 100 fL. Algunos de los megacariocitos más grandes pueden tener diámetros de 50 μm a 60 μm y volúmenes de 65.000 fL a 100.000 fL ⁽²⁾. Estas células únicas son poliploides y contienen gránulos y proteínas específicas de la plaqueta.

Los megacariocitos maduros son invariablemente poliploides y contienen de 2 (4N) a 32 (64N) veces la cantidad normal diploide de ADN ^(3,4), los megacariocitos humanos tienen una ploidia normal de 16N. A diferencia del pequeño porcentaje de hepatocitos y macrófagos que tienen de 2 a 4 veces el contenido diploide

normal de ADN y cuyo ADN está contenido en múltiples núcleos separados, todo el DNA de los megacariocitos está contenido en una envoltura nuclear altamente lobulada, donde cada lóbulo nuclear representa una cantidad diploide (2N) de DNA. En general hay una relación en la ploidía y el aumento del tamaño del megacariocito, pero dado el tiempo necesario para que el citoplasma del megacariocito madure, no todos los megacariocitos pequeños son de baja ploidía.

Los megacariocitos grandes, maduros y poliploides son fácilmente identificados mediante microscopia de luz, y con frecuencia se localizan junto a los sinusoides de la medula ósea (5). Ocasionalmente pueden incluso verse liberando plaquetas (1,6). Junto con los megacariocitos maduros, pueden identificarse otros estados madurativos más precoces de los megacariocitos (7) utilizando un esquema de maduración basado en la relación núcleo/citoplasma, forma nuclear, basófila y granulación (8). Estos megacariocitos precoces con frecuencia están distantes del sinusoide.

También existen células pequeñas en la medula ósea diploides, progenitoras del megacariocito denominadas promegacarioblasto, que son células transicionales comprometidas en el proceso de endomitosis pero aun no poliploides (9,10). En humanos estas células tienen el tamaño y morfología de los linfocitos (Tabla 1), y expresan GPIIb en su membrana y f α W o FP4 en su citoplasma (11, 12,13).

Tabla 1. Estadios morfológicos del megacariocito.

Término	Tamaño	Morfología
Megacarioblasto (estadio I)	>15	Núcleo lobulado, citoplasma basófilo
Megacariocito basófilo (estadio II)	>20	Núcleo con forma de herradura, citoplasma basófilo, gránulos azurofilos alrededor del centrosoma.
Megacariocito granular (estadio III)	>25-30	Núcleo grande multilobulado, citoplasma acidofilo, números gránulos azurofilos.
Megacariocito maduro (estadio IV)	>25-50	Núcleo picnotico, grupos de 10-12 gránulos azurofilos

Tomada de la bibliografía 8

Como todas las otras células los megacariocitos derivan de la célula madre pluripotente. Los pasos celulares por los que la célula madre pasa para convertirse en megacariocito se han definido en estudios de colonias *in vitro*, e incluyen los progenitores iniciales que tienen la capacidad de producir colonias constituidas por células de varias líneas como células formadoras de colonias granulocíticas, eritroides, macrofágicas, megacariocíticas (CFC-GEMM o CFC-MIX) y los progenitores tardíos comprometidos solo con la diferenciación megacariocítica (14,15).

Aunque la mayoría de las células CD34+/CD38- expresan el receptor de la trombopoyetina, C-MPL, en su superficie (16), pocas expresan otros antígenos megacariocíticos. Estas células finalmente dan lugar a progenitores multipotenciales como la CFC-GEMM, y probablemente a los progenitores comprometidos con la diferenciación eritroide, megacariocítica y mastocitaria.

En un momento determinado, el proceso de diferenciación produce células precursoras comprometidas solo en la diferenciación megacariocítica. La transición entre los progenitores multipotentes y los progenitores con restricción megacariocítica puede implicar al oncogén c-mpl, que esta considerablemente expresado en la líneas celulares megacariocíticas y en las células progenitoras (17). Se ha comunicado que la inhibición de la función in vitro de c-mpl disminuye la diferenciación de los progenitores primitivos (18). Se ha concebido un sistema de clasificación jerárquica de los progenitores megacariocíticos basado en las características proliferativas en cultivo, la expresión de antígenos de membrana y las propiedades físicas (19,20).

Los progenitores más inmaduros tienen una mayor capacidad para proliferar, la cual disminuye a medida que el progenitor se diferencia (21). El progenitor comprometido más precoz definible, la célula formadora de descargas megacariocíticas (CFB-Meg) (19) produce grupos de megacariocitos (100 células o más), está completamente expresado a los 21 días tras el inicio del cultivo, es resistente al tratamiento con 5-fluoracilo (5-FU), expresa el marcador de célula madre hematopoyética CD34 y es HLA- DR negativa. (21,22)

Un progenitor posterior, la célula formadora de colonias megacariocíticas (CFC-Meg) (23,24) da lugar a colonias compuestas por pocos megacariocitos, se expresa a los 12 días de cultivo, es sensible al 5-FU, expresa los antígenos de membrana GPIIb/IIIa (25,26) y HLA-DR (21) y entra en mitosis (27). El antígeno CD34 disminuye progresivamente con el aumento en la maduración de los progenitores y se pierde en el megacariocito inmaduro poliploide (28).

Finalmente la CFC-Meg finaliza la mitosis y entra en endomitosis, en la que se producen precursores poliploides con escaso citoplasma. Al finaliza la endomitosis, los megacariocitos inmaduros desarrollan un citoplasma maduro, llegan a ser morfológicamente identificables y finalmente liberan plaquetas. Globalmente, se requieren aproximadamente de 5 a 7 días para progresar desde las CFC-Meg hasta la plaqueta. Los megacariocitos morfológicamente identificables rara vez se dividen.

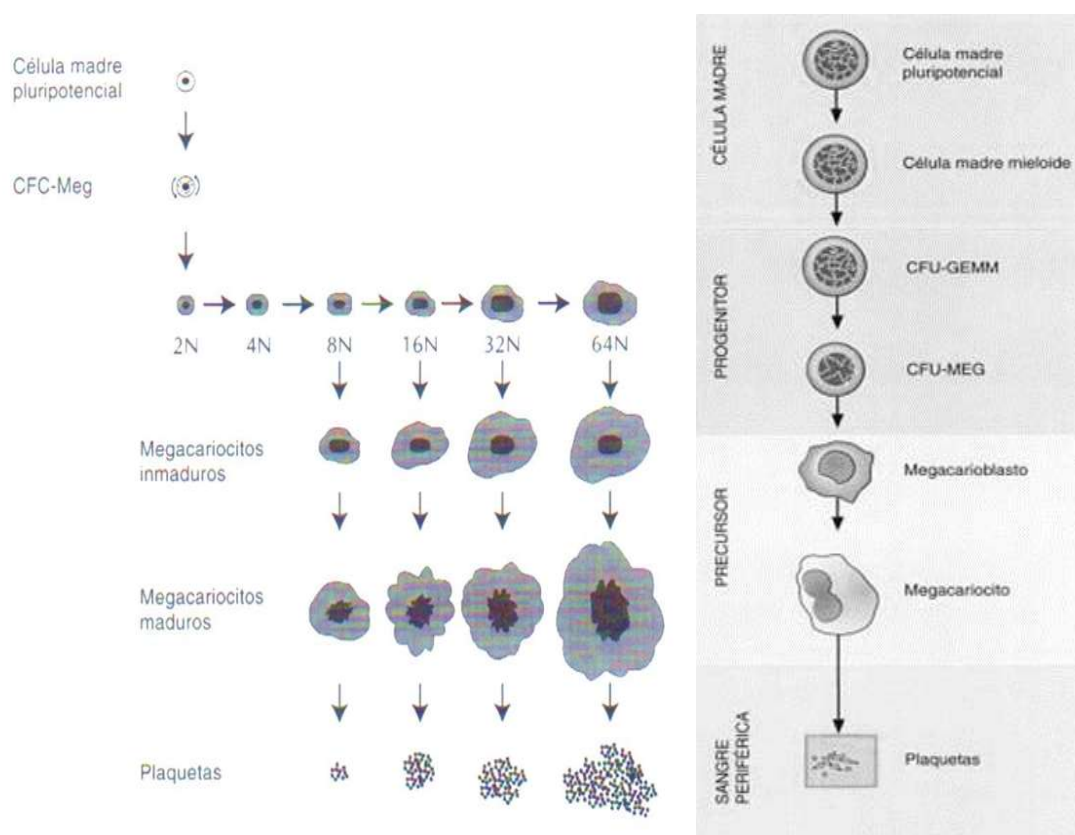


Figura 1. Origen y desarrollo de los megacariocitos. La célula madre pluripotencial produce una célula progenitora comprometida en la diferenciación megacariocítica CFC-meg que puede entrar en mitosis. Finalmente la CFC-Meg finaliza la mitosis y entra en endomitosis durante la cual ni el citoplasma ni el núcleo se dividen pero la replicación de DNA continua y da lugar a células precursoras inmaduras poliploides. Con la finalización de la endomitosis, las células progenitoras inmaduras se convierten en megacariocitos maduros, grandes. Morfológicamente identificables que liberan plaquetas.

Figura tomada de la bibliografía 59

I.2 Trombopoyetina

El principal regulador de la producción de plaquetas, la trombopoyetina, tiene un efecto importante en casi todos los pasos de diferenciación y maduración del megacariocito. Promueve el crecimiento de la CFC-Meg, aumenta considerablemente el índice de endomitosis, y estimula la maduración del megacariocito. La trombopoyetina se produce principalmente en las células del parénquima hepático, mientras que cantidades más pequeñas son producidas en el riñón.

La trombopoyetina se sintetiza como una proteína precursora de 353 aminoácidos con un peso molecular de 36kDa (29, 30,31). Tras la eliminación del péptido señal de 21 aminoácidos, los 332 aminoácidos restantes son sometidos a una glicosilación para producir una glucoproteína de 80kDa a 90kDa. La glicoproteína es liberada después de la circulación sin un aparente almacenamiento intracelular en el hígado o riñón.

La trombopoyetina es un factor de crecimiento hematopoyético sirve para amplificar el índice de producción basal de megacariocitos y plaquetas. Cuando la trombopoyetina o su receptor son bloqueados por una recombinación homóloga en ratones, la masa de megacariocitos y plaquetas disminuye hasta aproximadamente un 10% de lo normal. En animales en los que solo se ha delecionado uno de los genes de la trombopoyetina pueden aumentar su recuento de plaquetas

I.3 Plaquetas

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados que se producen como consecuencia de la ruptura de los megacariocitos de la médula ósea, las cuales son células extraordinariamente grandes (20 mm de diámetro), con un núcleo altamente poliploide y un citoplasma subdividido por capas de membranas onduladas. Se forman a partir de vesículas que se desprenden en grandes cantidades de las membranas externas de los megacariocitos. Circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocitos) de aproximadamente 3 mm² de diámetro, 4 – 7 mm³ de volumen y 10 pg de peso. Poseen carga eléctrica negativa en su superficie. Su concentración normal en la sangre es de 150 a 350 x 10⁶ /mL y su tiempo de vida media en sangre es de 7 a 10 días. Junto a los eritrocitos y leucocitos constituyen los elementos formes de la sangre (32,33). Poseen algunos elementos comunes a otras células y otros que las distinguen y caracterizan.

Las plaquetas se caracterizan por un consumo muy extenso de oxígeno, es 6 veces más rápido que en las células musculares en reposo. Incorporan a su interior (por un mecanismo independiente de energía) fragmentos de membrana que contienen GPIIb/IIIa y también fibrinógeno, y (por un mecanismo dependiente de energía), fragmentos de membrana que contienen GPIb, esto permite la regeneración de los receptores de membrana (33). Estas células concentran la mayoría de la serotonina de la sangre la cual toman unida a calcio mediante transporte activo (34). También toman del plasma ligandos como fibrinógeno, colágeno, fibronectina y aminas biógenas (33).

Cada megacariocito produce una media de 1,000 a 3,000 plaquetas y se ha estimado que se producen de 35,000 a 40,000 plaquetas por microlitro de sangre al día. Durante los momentos de marcada demanda plaquetaria, la producción normal puede aumentar seis veces. En las extensiones de sangre anti coagulada realizadas con el potente agente quelante, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), y teñidos con la tinción de Wright. Las plaquetas aparecen como pequeños corpúsculos gris azulado, ovalado o redondo, con varios gránulos purpuras, el diámetro medio de las plaquetas varía en los diferentes individuos, oscilando desde alrededor de 1.5 a 3 μm aproximadamente, de un tercio a un cuarto del de los eritrocitos. También hay una variabilidad considerablemente en el tamaño de la plaqueta de un mismo individuo, con plaquetas ocasionales en muestras de sangre normal que tienen diámetros mayores de la mitad del diámetro de los eritrocitos. Globalmente, el tamaño plaquetario parece seguir una distribución logarítmica normal. Cuando se utiliza sangre no anti coagulada para preparar las extensiones, las plaquetas experimentan una activación variable y se expande, y por eso se observan con frecuencia agregados plaquetarios; las plaquetas de estas muestras pueden presentar tres o cuatro proyecciones muy largas y finas que se extienden desde el cuerpo de la plaqueta (filópodos), y algunas plaquetas pueden estar desprovistas de gránulos.

I.4 Volumen plaquetario medio (VPM)

En la biometría hemática se reportan dos parámetros fundamentales relacionados con las plaquetas, su cuenta total y el volumen plaquetario medio (VPM); de estos, el primero es el más utilizado y fácil de interpretar.

El VPM es el significado geométrico del volumen plaquetario en un sistema tecnológico de impedancia, es medido por contadores celulares automatizados con base en impedancia y efecto óptico, pudiéndose modificar con el anticoagulante ácido etilaminotetracético (EDTA), la temperatura, el tiempo de almacenamiento de la muestra y su lectura idealmente en la primera hora después de tomar la muestra, de preferencia durante los primeros 30 minutos después de la extracción. En muestras anti coaguladas con EDTA, la evaluación del VPM posterior a la hora incrementa en 9% debido a edema plaquetario. En muestras con citrato de sodio como anticoagulante no se observa esta modificación. El VPM mide el volumen plaquetario, el cual está en relación directa con su tamaño. Se mide en fentolitros (fL) y su valor normal es de 7.5 a 10 fL.

Existe una relación inversa entre el número de plaquetas y el VPM. De esta manera, en trombocitopenia el VPM está elevado y en trombocitosis está disminuido.

Típicamente, el volumen plaquetario medio se utilizaba como auxiliar diagnóstico en macrotrombocitopenias congénitas poco comunes y como parte del abordaje de trombocitopenias periféricas autoinmunes.

Actualmente, se reconoce al volumen plaquetario medio como un marcador de riesgo útil para la predicción de trombo embolismo pulmonar y otros tipos de trombosis; de forma independiente con lo antes mencionado, el volumen plaquetario medio también puede estar elevado en los pacientes con consumo de tabaco, obesidad, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus e hiperlipidemia. La elevación del volumen plaquetario medio se asocia con otros marcadores de actividad plaquetaria, incluyendo el incremento en la agregación plaquetaria, aumento en la síntesis del tromboxano, liberación de β -tromboglobulina y aumento en la expresión y adhesión de moléculas. Un volumen plaquetario medio elevado al ingreso del paciente con un evento trombótico agudo, así como su elevación en los días posteriores (los valores máximos de volumen plaquetario medio alcanzan sus valores al sexto día a partir del suceso cardiovascular), está asociado con aumento en la mortalidad posterior a un infarto agudo de miocardio y a reestenosis después de angioplastia coronaria. El volumen plaquetario medio es un factor de riesgo independiente de isquemia y muerte. La evidencia científica sugiere al volumen plaquetario medio como un marcador pronóstico útil en pacientes con enfermedad cardiovascular, y su elevación se relaciona con eventos y desenlaces cardiovasculares adversos. (35)

El número, densidad y tamaño de las plaquetas está determinado por una compleja interacción entre factores de crecimiento, citocinas, hormonas y el megacariocito en la médula ósea. La megacariopoyesis está programada para mantener la función y masa de las plaquetas, mecanismo en el que está involucrado estrechamente, la trombopoyetina, el factor estimulante de colonias de

megacariocitos, las interleucinas 1 y 6, y el factor de necrosis tumoral. Los niveles de trombopoyetina están determinados por el género y el número de plaquetas.

En situaciones de estrés se incrementa la producción y masa plaquetaria, lo que da como resultado la liberación a la circulación de un gran número de plaquetas altamente reactivas que migran a los sitios de lesión. Un estímulo intenso a nivel medular induce una hiperproducción de plaquetas que se caracteriza por tener un VPM alto. Conforme la edad de la plaqueta avanza, se pierden glicoproteínas de superficie, lo que altera de manera significativa los procesos de activación y agregación, por otro lado, la disminución en la densidad, determinada por la pérdida de su contenido granular, reduce su función.

La disminución en el tamaño evaluado con un VPM es el resultado del consumo de plaquetas grandes y funcionales, resultando en predominio en la circulación de plaquetas más pequeñas, lo que necesariamente no impacta en su función. (36)

La correlación entre cuenta de plaquetas y VPM se ha descrito en varias entidades; en casos de una cuenta plaquetaria normal con disminución de VPM se infiere que hay una trombopoyesis compensatoria como se ha observado en enfermos con purpura trombocitopenia idiopática compensada y en la macrotrombocitopenia mediterránea.

La asociación de trombocitos con un VPM elevado se infiere que existe una trombopoyesis autónoma. Existen varias enfermedades hereditarias caracterizadas por trombocitopenia y VPM elevado, de las que destacan la anomalía de May-Hegglin y los síndromes de Bernard- Soulier, Epstein- Fetchtner

y el de las plaquetas grises. En casos de trombocitopenia de diferente etiología se ha descrito que un factor de riesgo independiente y predictor de hemorragia, se puede considerar la disminución de VPM, evento que se puede presentar en casos de toxicidad. (6,12)

I.5 Medición del volumen plaquetario medio

La evidencia científica ha mostrado que la medición del volumen plaquetario medio tiene utilidad diagnóstica como marcador de riesgo cardiovascular; sin embargo, muchos clínicos no utilizan este parámetro debido a las dificultades asociadas con la medición de este marcador. Los problemas técnicos asociados son los siguientes:

- a)** Las diferentes técnicas para medir volumen plaquetario medio arrojan resultados diferentes. El sistema Beckman-Coulter utiliza impedanciometría y calcula el volumen plaquetario medio a través de una curva plaquetaria ajustada. Los instrumentos de Bayer utilizan la medida de dispersión de láser en dos ángulos; el histograma plaquetario se calcula por el ángulo de dispersión más alto; con base en eso se calcula el volumen plaquetario medio por la medida del volumen de las plaquetas. Cuando se compararon los resultados de estos dos instrumentos de medición se observó una diferencia superior a 40%.
- b)** El valor de referencia de volumen plaquetario medio varía con la cuenta plaquetaria, lo que refleja la homeostasia regulatoria de la masa plaquetaria total. De este modo, se debe usar un normograma para interpretar el volumen plaquetario medio que tome el número de plaquetas como referencia.

c) No existe ninguna calibración estandarizada.

d) El volumen plaquetario medio varía con el tiempo en las muestras anticoaguladas con EDTA. Los cambios plaquetarios inducidos por EDTA ocasionan incremento progresivo del volumen plaquetario medio cuando se mide por impedanciometría. En términos generales, el aumento de volumen plaquetario medio aumenta más de 30% después de cinco minutos de la exposición, y aumenta de 10 a 15% en las siguientes dos horas. El efecto de EDTA en volumen plaquetario medio con medición por análisis óptico no está bien documentado, pero es impredecible, disminuyendo en muchas de las muestras de algunos pacientes y aumentando en otras.

e) El volumen plaquetario medio es más útil para evaluar pacientes trombocitopénicos. De cualquier forma, las plaquetas bajas son marcadas por el instrumento de medición debido a la presencia de partículas que se entrometen, por consiguiente el volumen plaquetario medio puede no ser preciso.

I.6 Diabetes Mellitus

La diabetes se está convirtiendo en una de las grandes epidemias del siglo XXI. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que de 1995 a la fecha el número de personas que viven con diabetes se ha triplicado, la cifra actual llega a más de 347 millones de personas en el mundo que viven con diabetes. Según números de la Federación Internacional de Diabetes los países con mayor número de personas que padecen la enfermedad son: China, India, Estados Unidos, Brasil, Rusia y México (en ese orden), es por eso que es importante luchar contra este padecimiento.

En la actualidad México se encuentra en sexto lugar a nivel mundial en Diabetes Mellitus con 8.7 millones de pacientes diabéticos y se cree que para el 2035 se encuentre en quinto lugar con un aproximado de 15.7 millones de diabéticos. Siendo la primera causa de muerte en nuestro país.

La DM es una alteración metabólica de etiología múltiple caracterizada por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas, con una secuencia de defectos en la secreción o la acción de la insulina, o una combinación de ambas. ⁽³⁹⁾ La diabetes de tipo 1 (DM1) se debe a la ausencia prácticamente completa de producción pancreática de insulina endógena, mientras que en la diabetes de tipo 2 (DM2) el aumento de glucosa en sangre se debe a una combinación de factores como la predisposición genética, una dieta poco saludable, la inactividad física y el aumento de peso con distribución central, que producen complejos procesos fisiopatológicos. La DM se asocia con el desarrollo de daños orgánicos específicos a largo plazo producidos

por la enfermedad microvascular (complicaciones diabéticas). Los pacientes con diabetes también presentan un alto riesgo de enfermedad cardiovascular, cerebro vascular y periférica.

La clasificación de la diabetes incluye las categorías etiológicas y los distintos estadios clínicos de hiperglucemia ⁽⁴⁰⁾. Se han identificado 4 categorías principales: DM1, DM2, otros tipos específicos de diabetes y diabetes gestacional.

Diabetes tipo 1. Se caracteriza por una deficiencia de la insulina debida a lesiones destructivas de las células beta del páncreas; ocurre típicamente en sujetos jóvenes, aunque puede aparecer a cualquier edad ⁽⁴¹⁾ Las personas con anticuerpos contra las células beta del páncreas, como los anticuerpos a la descarboxilasa del ácido glutámico, es probable que desarrollen diabetes insulín dependiente, bien de aparición aguda, bien de progresión lenta. ^(42, 43)

Diabetes de tipo 2. Está causada por la disminución de secreción de insulina y una disminución de la sensibilidad a ésta. Las primeras fases de la DM2 se caracterizan por la resistencia a la insulina, la cual provoca una excesiva hiperglucemia postprandial. A esto le sigue un deterioro de la primera fase de la respuesta insulínica al aumento de la concentración de glucosa en sangre ⁽⁴⁴⁾. La DM2, que afecta a más del 90% de los adultos con diabetes, se desarrolla típicamente en la edad adulta. Los pacientes son, en general, obesos y físicamente inactivos.

Diabetes gestacional. Esta categoría incluye cualquier alteración de la glucosa que se presenta durante el embarazo y desaparece tras el parto. Aproximadamente el 70% de las mujeres con diabetes gestacional desarrollará diabetes a lo largo de su vida. ⁽⁴⁵⁾

Tabla 2. Valores de referencia de niveles de glucosa de acuerdo a la ADA 2016

Valores de referencia de glucosa sérica
Normal 70 – 99 mg/dL
Pre-diabetes 100 – 125 mg/dL
Alto >126 mg/dL

Tabla tomada de la referencia 40

Tabla 3. Conversión de factores para la determinación de las concentraciones de glucosa.

Glucosa plasmática (mmol/l) = 0,558 + 1,119 x glucosa total en sangre (mmol/l)

Glucosa plasmática (mmol/l) = 0,102 + 1,066 x glucosa capilar (mmol/l)

Glucosa plasmática (mmol/l) = -0,137 + 1,047 x glucosa sérica (mmol/l)

Tabla tomada de la referencia 40

Las concentraciones de glucosa en sangre se mantienen normalmente en un rango muy estrecho, usualmente entre 70 y 120 mg/dl. El diagnóstico de diabetes se establece al demostrar una elevación de la glucosa plasmática según cualquiera de los criterios siguientes ⁽⁴⁶⁾.

a) Poseer signos y síntomas de diabetes junto a una concentración ocasional de glucosa plasmática ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l); definiendo casual, como un momento cualquiera del día, independiente del tiempo transcurrido desde la última comida.

b) Tener niveles de glucosa plasmática en ayunas ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l). Se considera ayunas cuando han pasado al menos 8 horas sin aporte calórico.

c) Encontrar 2 horas después de haber realizado un test de tolerancia oral una glucosa postprandial ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l). El test debe ser llevado a cabo siguiendo las normas de la OMS, empleando una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 gramos de glucosa anhidra disuelta en 250 ml de agua.

En caso de no existir una hiperglucemia inequívoca, los criterios deben ser confirmados tras repetición en un día posterior.

El tratamiento de la diabetes se basa en el control de la enfermedad y de las complicaciones derivadas de ella. En un primer lugar van a ser primordiales todos aquellos aspectos comportacionales del individuo. Los objetivos del tratamiento son:

- 1.** Conseguir niveles adecuados de glucosa en sangre.
- 2.** Conseguir niveles óptimos de lípidos.

3. Dieta adecuada en calorías para conseguir un peso razonable, un crecimiento y desarrollo normales y un embarazo y lactancia adecuados.

4. Evitar sedentarismo y tabaco.

5. Mejorar la salud mediante una nutrición óptima (46, 47)

En la diabetes mellitus tipo 1 el tratamiento más común es la insulino terapia. El objetivo principal es aportar la hormona y conseguir una disminución de la hemoglobina glucosilada, la cual nos muestra el control metabólico del paciente en periodos de tiempo de hasta 3 meses. Según el tipo de diabetes, el momento de aparición y la severidad de la enfermedad, se emplean pautas diferentes en la administración subcutánea de insulina. En el inicio del tratamiento con insulina es preferible la pauta de 2 dosis al día (salvo en edades avanzadas). La dosis inicial sería de 0,50 U/kg/día, aumentando con prudencia a 2-4 U/día durante al menos 2 días. En la pauta inicial el reparto puede ser de 2/3 de la dosis antes del desayuno y 1/3 antes de la cena. Es importante saber que en pacientes de edad avanzada sólo se deberá administrar una dosis. (49)

En pacientes con diabetes mellitus tipo 2, la principal opción terapéutica son los hipoglucemiantes orales. Existen diferentes fármacos con distinta función, cuyo objetivo final será disminuir los niveles plasmáticos de glucosa. Según la función del fármaco podemos emplear los siguientes:

1. Sensibilizar cuerpo a insulina: Tiazolidinedionas o biguanidas.

2. Controlar la producción de glucosa hepática: Tiazolidinedionas o biguanidas.

3. Estimular al páncreas a producir más insulina: Meglitinidas o sulfonilureas.
4. Retrasar la absorción de carbohidratos: inhibidores α -glicosidasa.
5. Aumentar la captación periférica de glucosa: insulina.

Además, en estos pacientes será necesario una monitorización de los siguientes parámetros: Presión arterial, microalbuminuria, perfil de lípidos, Hemoglobina glucosilada y un examen físico de extremidades en cada visita médica, así como una revisión anual de la vista.

		 Finnish Diabetes Association											
Formulario para la evaluación del riesgo de la diabetes tipo 2													
Rodee con un círculo lo que corresponda y sume los puntos													
1. Edad 0 p Menos de 45 años 2 p Entre 45-54 años 3 p Entre 55-64 años 4 p Más de 64 años		6. ¿Ha tomado usted medicación para la hipertensión con regularidad? 0 p No 2 p Sí											
2. Índice de masa corporal 0 p Menos de 25 kg/m ² 1 p Entre 25-30 kg/m ² 3 p Más de 30 kg/m ²		7. ¿Le han encontrado alguna vez niveles altos de glucosa en sangre, por ejemplo, en un examen médico, durante una enfermedad, durante el embarazo? 0 p No 5 p Sí											
3. Perímetro de la cintura medido debajo de las costillas (normalmente a la altura del ombligo) <table border="0"> <tr> <td>Varones</td> <td>Mujeres</td> </tr> <tr> <td>0 p Menos de 94 cm</td> <td>Menos de 80 cm</td> </tr> <tr> <td>3 p 94-102 cm</td> <td>80-88 cm</td> </tr> <tr> <td>4 p Más de 102 cm</td> <td>Más de 88 cm</td> </tr> </table>		Varones	Mujeres	0 p Menos de 94 cm	Menos de 80 cm	3 p 94-102 cm	80-88 cm	4 p Más de 102 cm	Más de 88 cm	8. ¿A algún miembro de su familia cercana o a algún familiar le han diagnosticado diabetes (tipo 1 o tipo 2)? 0 p No 3 p Sí: abuelos, tíos o primos hermanos (pero no: padres, hermanos o hijos) 5 p Sí: padres, hermanos o hijos propios			
Varones	Mujeres												
0 p Menos de 94 cm	Menos de 80 cm												
3 p 94-102 cm	80-88 cm												
4 p Más de 102 cm	Más de 88 cm												
		Escala de riesgo total ☐ El riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 durante los próximos 10 años es <table border="0"> <tr> <td>Menos de 7 p</td> <td>Bajo: se estima que 1 de cada 100 pacientes desarrollará la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>7-11 p</td> <td>Ligeramente elevado: se estima que 1 de cada 25 pacientes desarrollará la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>12-14 p</td> <td>Moderado: se estima que 1 de cada 6 pacientes desarrollará la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>15-20 p</td> <td>Alto: se estima que 1 de cada 3 pacientes desarrollará la enfermedad</td> </tr> <tr> <td>Más 20 p</td> <td>Muy alto: se estima que 1 de cada 2 pacientes desarrollará la enfermedad</td> </tr> </table>		Menos de 7 p	Bajo: se estima que 1 de cada 100 pacientes desarrollará la enfermedad	7-11 p	Ligeramente elevado: se estima que 1 de cada 25 pacientes desarrollará la enfermedad	12-14 p	Moderado: se estima que 1 de cada 6 pacientes desarrollará la enfermedad	15-20 p	Alto: se estima que 1 de cada 3 pacientes desarrollará la enfermedad	Más 20 p	Muy alto: se estima que 1 de cada 2 pacientes desarrollará la enfermedad
Menos de 7 p	Bajo: se estima que 1 de cada 100 pacientes desarrollará la enfermedad												
7-11 p	Ligeramente elevado: se estima que 1 de cada 25 pacientes desarrollará la enfermedad												
12-14 p	Moderado: se estima que 1 de cada 6 pacientes desarrollará la enfermedad												
15-20 p	Alto: se estima que 1 de cada 3 pacientes desarrollará la enfermedad												
Más 20 p	Muy alto: se estima que 1 de cada 2 pacientes desarrollará la enfermedad												
4. ¿Normalmente practica usted 20 minutos de actividad física en el trabajo y/o en su tiempo libre (incluida la actividad diaria normal)? 0 p Sí 2 p No													
5. ¿Con cuánta frecuencia come usted vegetales, frutas o bayas (como fresas, frambuesas, etc.)? 0 p Todos los días 1 p No todos los días													

Figura 2. Score de riesgo FINDRISC (FINish Diabetes Risk Score) para evaluar el riesgo de desarrollo de diabetes tipo 2 durante 10 años en adultos. Modificada por Lindstrom y Tuomilehto³¹. Disponible en: www.diabetes.fi/english;

Imagen tomada de la bibliografía 49

I.7 Riesgo Cardiovascular

La valoración del perfil de riesgo cardiovascular total es importante para establecer las medidas preventivas adecuadas en pacientes asintomáticos, pero con alto riesgo de presentar enfermedad cardiovascular. Existen numerosos estudios y modelos creados al efecto. Cualquier modelo de medición, para que sea propicio en términos de prevención primaria, debe influir favorablemente sobre el riesgo de la enfermedad o sobre los factores específicos de riesgo. (50)

El riesgo cardiovascular se define como la probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular (enfermedad coronaria, ataque cerebro vascular o arteriopatía periférica) en un período de tiempo de diez años. La valoración del riesgo cardiovascular permite conocer aquellos grupos en los que se deben incrementar las actividades de prevención y las intervenciones farmacológicas y no farmacológicas dirigidas a disminuir la morbimortalidad por enfermedad cardiovascular. La hipertensión arterial, la hipercolesterolemia y el tabaquismo son los tres factores de riesgo cardiovascular modificables de mayor relevancia. La diabetes, el sedentarismo, la obesidad o el sobrepeso y el consumo excesivo de alcohol son otros factores que se consideran como modificables o controlables (50)

La hipertensión arterial es un factor de riesgo para enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, enfermedad cerebro vascular e insuficiencia renal. (51)

La reducción y el mantenimiento de las cifras de presión arterial a valores inferiores a 140/90 mm Hg, en la población general, o inferiores a 130/80 mm Hg en pacientes con diabetes o con afectación renal, reducen en forma significativa el riesgo de ataque cerebro vascular, enfermedad coronaria e insuficiencia cardíaca.

La hipertensión arterial no es un fenómeno aislado y, por lo general, los pacientes hipertensos presentan múltiples factores de riesgo asociados, cuyo conjunto incrementa el riesgo de presentar una enfermedad cardiovascular. (51)

Recientemente aparecieron evidencias sobre la necesidad del tratamiento global del riesgo cardiovascular en el paciente hipertenso. Cada vez es mayor la certeza de que no basta con buscar un óptimo control de las cifras de presión arterial sino que es imprescindible averiguar y reducir todos los factores de riesgo cardiovascular.(52,53)

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades crónicas degenerativas constituyen una de las primeras causas de muerte a nivel mundial. Entre este tipo de padecimientos se encuentra la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) con tendencia a presentarse cada vez más en personas jóvenes. En México es la primera causa de muerte, y específicamente en el grupo de 55 a 64 años ocupa el primer lugar como motivo de defunción. En la actualidad México ocupa el sexto lugar en DM. La prevalencia de DM2 en nuestro país en adultos a nivel nacional es del 7%, y es mayor en las mujeres (7.3%) que en los hombres (6.5%). En el grupo de 50 a 59 años, dicha proporción es de 13.5%, 14.2% en mujeres y 12.7% en hombres.⁽⁵⁴⁾

Se pretende que las personas con DM presentan valores más elevados de VPM que una persona sana al momento de realizar una biometría hemática, el cual podría ser un indicador importante en predecir si un paciente con DM puede o no presentar un daño cardiovascular.

Al poder identificar esta relación se podría tener en un futuro una prueba complementaria de mucha importancia en el diagnóstico de pacientes diabéticos, lo cual ayudaría a diagnosticar a tiempo un riesgo cardiovascular en este grupo de pacientes.

Por lo que la pregunta a investigar es: ¿Se puede considerar el VPM un indicador de riesgo cardiovascular en pacientes con DM?

III. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus se ha convertido una de las enfermedades crónicas degenerativas más frecuentes en jóvenes y adultos, los cuales a causa de esta enfermedad tienen más probabilidades de padecer una enfermedad cardiovascular que los puede llevar incluso a la muerte.

En el laboratorio del Centro de Investigación Biomédica del IMSS de Michoacán, se estudiaron muestras biológicas de pacientes con y sin diabetes mellitus, a cada una de ellas se le realizó una Biometría hemática de la cual solo se consideró el valor del VPM, así como un perfil de lípidos.

El beneficio de este estudio fue principalmente obtener el valor del VPM y determinar si el incremento de este parámetro es un indicador de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes, por lo que en un futuro esta sería una prueba complementaria en el diagnóstico de laboratorio de un paciente diabético, para así poder diagnosticar un riesgo cardiovascular en una etapa temprana.

IV. HIPÓTESIS

El volumen plaquetario medio es un factor predictor de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus.

V. OBJETIVO GENERAL

Investigar el volumen plaquetario medio como factor de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus

V.I Objetivo específico

-Evaluar la asociación del VPM con el perfil de lípidos en pacientes con y sin diabetes mellitus.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio: transversal comparativo, retrospectivo e hipotético deductivo.

Población: individuos diabéticos en un rango de edad de 15-81 años e individuos sanos (no diabéticos).

Tamaño de la muestra

Se calculó con base a la ecuación de estimación de tamaño de muestra para dos grupos.

Se estimó que el 70% de los individuos presentaban un valor elevado de VPM y 45% de los mismos presentan un valor normal,

Utilizando la ecuación siguiente y sustituyendo:

$$n = \frac{[Z\alpha \sqrt{2\pi_1(1 - \pi_1)} - Z\beta \sqrt{\pi_1(1 - \pi_1)} + (1 - \pi_2)]^2}{\pi_1 - \pi_2}$$

Donde:

$Z\alpha$: 1.96

$Z\beta$: -6.45

π_1 : 0.70

π_2 : 0.45

$\pi_1 - \pi_2$: 0.25

Sustituyendo

$$n = \left[\frac{1.96 \sqrt{2 \times 0.70 \times 0.30} - (-1.645) \sqrt{0.70 \times 0.30 + (0.45 \times 0.55)}}{0.25} \right]$$

$$n = \frac{(1.2700 + 1.1125)^2}{0.25}$$

$$n = \underline{90.1209} // \quad \mathbf{90 \text{ muestras por grupo}}$$

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Inclusión:

- Pacientes diabéticos
- Pacientes sanos (no diabéticos)
- Edad entre 18 y 65 años

No inclusión:

- Que no deseen participar en el estudio
- No cumplan los requisitos
- Mala obtención de la muestra

Variables dependientes: glucosa, VPM

Variables independientes: riesgo cardiovascular

Variables bioquímicas: glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL, VPM, lípidos totales, índice aterogénico.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable	Definición	Escala de medición
Edad	Edad del paciente medida en años	Continua, años
Peso	Peso del paciente en kg	Continua, kg
Talla	Estatura del paciente en metros	Continua, en metros y centímetros
Presión sistólica	Medición en baumanómetro de mercurio	Continua, milímetros de mercurio
Presión diastólica	Medición en baumanómetro de mercurio	Continua, milímetros de mercurio
Circunferencia de cintura	Medición del perímetro de la cintura en centímetros	Continua, en centímetros
Glucosa	Concentración sérica de glucosa	Continua, miligramos por 100 ml
Colesterol total	Concentración seria de colesterol cuantificado por método enzimático colorimétrico	Continua, miligramos por 100 ml
Colesterol de alta densidad (HDL)	Colesterol asociado a las lipoproteínas, cuantificado en suero por método enzimático colorimétrico	Continua, miligramos por 100 ml
Colesterol de baja densidad (LDL)	Colesterol asociado a las lipoproteínas cuantificado en suero por método enzimático colorimétrico	Continua, miligramos por 100 ml
Triglicéridos	Concentración de triglicéridos cuantificados en suero por método enzimático colorimétrico	Continua, miligramos por 100 ml
VPM	Parámetro dado en la biometría hemática, el cual mide el volumen de las plaquetas	Continua, en fentolitros (fL)
Índice aterogénico	Es la proporción matemática entre los niveles de colesterol total en el organismo y colesterol HDL o lipoproteínas de alta densidad.	No se expresa en unidades
Lípidos totales	Evaluación del riesgo aterogénico.	Continua, mg/dL

METODOLOGÍA

A cada paciente que reunió los criterios de inclusión y firmaron la carta de consentimiento informado por escrito (anexo 1), para:

- Un interrogatorio dirigido investigando antecedentes de diabetes e hipertensión (Historia clínica completa). (ANEXO 2)
- Se les midió la presión arterial con baumanómetro de mercurio previamente calibrado, sentado en reposo por lo menos cinco minutos, sin haber ingerido bebidas cafeinadas, no haber fumado en los treinta minutos previos al estudio.
- Se les realizó la medición del peso corporal (Kg) en báscula con estadímetro con bata clínica y sin zapatos, la medición de la talla (m) en posición erecta, con talones juntos y los pies separados en un ángulo de 60°, con la cabeza en un plano horizontal de Francfort (línea imaginaria que une el borde superior del conducto auditivo con la órbita), brazos libres a los costados y las palmas hacia las caderas.
- Se midió el perímetro abdominal con cinta métrica que se tomó del centro del ombligo.
- Además a cada paciente se le colectaron 13 ml de sangre venosa. 10 ml se sirvieron en tubo Vacutainer sin anticoagulante (rojo), se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos para la obtención de suero y de inmediato realizar la cuantificación de glucosa, colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), por métodos enzimáticos

colorimétricos. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se calcularon con la ecuación de Friedewald ($LDL = CT - (HDL + TG/5)$).

- También se colectaron 4ml de sangre venosa en tubo morado con anticoagulante (EDTA) manteniéndose en agitación durante 2 minutos para posteriormente realizar la biometría hemática en equipo automatizado BC 5300.

Método utilizado para determinar glucosa (test fotométrico enzimático “GOP-PAD”)

Fundamento



Reactivos

- Amortiguadora fosfato pH 7,5 250mmol/L
- Fenol 5mmol/L
- 4- aminoantipirina 0.5 mmol/L
- Glucosa oxidasa >10 KU/L
- Peroxidasa >1KU/L
- Estándar 100mg/dl (5.55 mmol/L)

Procedimiento

	Blanco	Muestra/estándar
Muestra/ estándar	-----	10 microlitros
Agua destilada	10 microlitros	-----
Reactivo	1000 microlitros	1000 microlitros

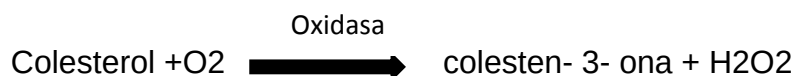
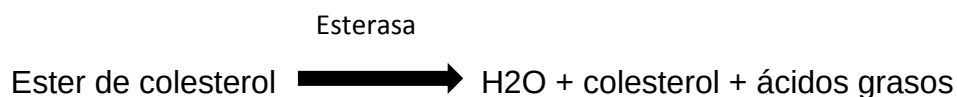
Mezclar, incubar durante 20 minutos de 20 a 25 °C a 37 °C. Leer la absorbancia contra el blanco de reactivo dentro de 60 min a 500 nm.

Cálculos

$$\text{Glucosa (mg/dl)} = \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ and. / ca}} \times \text{conc. Estand. / Cal (mg/dl)}$$

Método utilizado para determinar colesterol total (método enzimático de punto final)

Fundamento



Reactivos

- 4- aminoantipirina 0.30 mmol/L
- Fenol 6mmol/L
- Peroxidasa >0.5 ml
- Colesterol esterasa > 0.15 U/ml
- Colesterol oxidasa >0.1 U/ml
- Tampón pipes pH=6.8 80 mmol/L

Procedimiento

	Blanco (ul)	Patrón /ul)	Muestra (ul)
Agua destilada	10	-----	-----
Patrón	-----	10	-----
Muestra	-----	-----	10
Reactivo	1000	1000	1000

Mezclar, incubar durante 10 minutos a 20 a 25 °C o 5 minutos a 37°C. Medir la absorbancia de la muestra frente al blanco antes de 60 min a 500 nm.

Cálculos

$$\text{Conc. De colesterol} = \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patrón}} \times \text{conc. De patrón}$$

Método utilizado para determinar triglicéridos (test colorimétrico enzimático utilizando GPO)

Fundamento

Triglicéridos $\xrightarrow{\text{LPL}}$ glicerol + ácido graso

Glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{GP}}$ glicerol-3-fosfato + ADP

Glicerol-3-fosfato + O₂ $\xrightarrow{\text{GPO}}$ dihidroxiacetona fosfato + H₂O

2 H₂O₂ + aminoantipirina + 4-clorofenol $\xrightarrow{\text{POD}}$ quinoneimina + HCl + 4 H₂O

Reactivos

- Soln. Amortiguadora de good pH 7,2 50 mmol/L
- 4-clorofenol 4 mmol/L
- ATP 2 mmol/L
- Mg⁺ 15 mmol/L
- Gliceriquinasa (GK) > 0.4 KU/L
- Peroxidasa (POD) > 2 KU/L
- Lipasa lipoproteína (LPL) > 2 KU/L
- 4-aminoantipirina 0.5 mmol/L
- Glicerol-3fosfato-oxidasa (GPO) > 0.5 KU/L
- Estándar 200 mg/dL (2.3 mmol/L)

Procedimiento

	Blanco	Muestra/estándar
Muestra/ estándar	----	10 uL
Agua destilada	10 UI	----
Reactivo	1000 uL	1000 uL

Mezclar e incubar durante 20 minutos de 20 a 25 °C o 10 minutos a 37°C. posteriormente leer la absorbancia contra el blanco dentro de 60 minutos a 500nm, Hg 546 nm.

Cálculos

Triglicéridos (mg/dL) = $\frac{\text{A muestra}}{\text{A Estd./cal.}}$ X conc. Estándar (mg/dL)

A Estd./cal.

Colesterol HDL

Procedimiento: En un tubo de vidrio, se colocan 200 µl de muestra (suero) con 500 µl de reactivo precipitante, se mezcla y se incuba 10 minutos a temperatura ambiente. Centrifugar 10 minutos a 4000 rpm. Separar el sobrenadante y en el mismo realizar la determinación de colesterol antes de que transcurran 2 horas. Se realiza la medida de colesterol por el método CHOD PAP. Se toman 100 µl del sobrenadante con 1000 µl de reactivo de colesterol, se mezcla se incuba a 37°C durante 5 minutos. Se mide la absorbancia de la muestra y del patrón frente al reactivo blanco durante los 15 minutos siguientes a una longitud de onda de 546 nm.

Colesterol LDL

Procedimiento: en un tubo de vidrio se colocan 4µl de muestra (suero) con 300 µl de reactivo 1 precipitante, se mezcla y se incuba a una temperatura de 37°C durante 5 minutos. Una vez transcurridos los 5 minutos se añaden 100 µl de reactivo 2, se mezcla y nuevamente se incuba a 37 °C, posteriormente se lee la absorbancia frente al blanco de reactivo a una longitud de onda de 600 nm.

VPM

Procedimiento: en tubo morado se toman 3ml de sangre venosa con anticoagulante EDTA, una vez obtenida la muestra se mezcla lentamente durante 2 minutos para posteriormente procesarla en el equipo automatizado BC-5300 para Biometría hemática mediante impedancia y efecto óptico, el cual después de 1 a 2 minutos aproximadamente arroja los resultados correspondiente

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se expresan en promedio $\pm$ desviación estándar. Se realizó prueba t de Student para muestras independientes para la comparación entre los grupos con diabetes y sin diabetes. Se realizó la correlación de Pearson para determinar la asociación entre las variables. Además se llevó a cabo un análisis de asociación de riesgo relativo para determinar la probabilidad del riesgo entre el VPM y la existencia de riesgo cardiovascular. Se estableció diferencia estadística significativa con un P valor < 0.05 .

Los datos se analizaron en el programa computacional SPSS versión 18.0 para Windows.

VIII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas, así como los códigos y normas Internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica. Además de todos los aspectos en cuanto al cuidado que se deberá tener con la seguridad y bienestar de los pacientes se respeta cabalmente los principios contenidos en el Código de Núremberg, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas, el Informe Belmont, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos (Regla Común). De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud en su título segundo, capítulo 1, artículo 13 En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar. Artículo 14.- La investigación que se realice en seres humanos deberá desarrollarse conforme a las siguientes bases: se ajustara a los principios científicos y éticos que la justifiquen, contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación o su representante legal.

Artículo 16.- En las investigaciones en seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo solo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice.

Artículo 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía

del estudio. Para efectos de este estudio y apegados a este reglamento, la investigación se clasifica en la siguiente categoría:

Categoría II. Investigación con riesgo mínimo: ya que se trata de un estudio comparativo y transversal, en el cual se realizaran procedimientos comunes de medición de la presión arterial, colecta de sangre venosa y preguntas dirigidas al paciente en estudio.

IX. RESULTADOS

Se procesaron y estudiaron muestras biológicas en el Centro de Investigación Biomédica del IMSS de 180 pacientes que se obtuvieron de un laboratorio clínico del municipio de Múgica, el rango de edad fue de 15 a 81 años los cuales se dividieron en dos grupos (90 pacientes en cada uno de ellos) el primero fue el grupo control constituido por pacientes no diabéticos) y el segundo grupo problema por pacientes diabéticos.

.Tabla 4. Características clínicas de los pacientes en estudio

VARIABLE	Grupo DM n= 90	Grupo Control n= 90	P*
Edad (años)	56.3 ± 11.97	47.99 ±19.44	0.001
Género (F/M)	64 / 26	60 / 30	
Peso (kg)	78.82 ± 15.27	73.94 ± 16.75	0.270
Talla (m)	1.58 ± 0.07	1.60 ± 0.10	0.327
CC (cm)	106.56 ± 11.68	99.94 ± 15.018	0.020
PAS (mmHg)	134.41 ± 23.99	129.97 ± 20.88	0.205
PAD (mmHg)	79.05 ± 13.25	77.18 ±10.68	0.317
TAB (si/no)	2 / 88	2 / 88	

TAB: tabaquismo, CC: circunferencia de cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica. *Prueba T de Student para muestras independientes. P <0.005,

No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los grupos en estudio, lo cual nos habla de una homogeneidad con respecto a la talla, PAD y tabaquismo en las muestras en estudio.

En el Grupo DM el 100% (n=90) de los pacientes tuvieron una circunferencia de cintura por arriba de 80 cm para mujeres y 90 cm para hombres; en el grupo control, el 83.3% (n=65) de los pacientes tuvieron también la circunferencia de cintura elevada lo que nos habla de una frecuencia de obesidad abdominal importante en ambos grupos de estudio. Con respecto al IMC en el grupo DM el 77.8% (n=70) y en el grupo control el 55.6% (n=50) tuvo sobrepeso u obesidad.

En cuanto a la Presión arterial sistólica se encontró que en el grupo DM, el 33.3% (n=30) tuvo HTA y en el grupo control solo el 32.1% (n=25).

Tabla 5. Características bioquímicas de los pacientes con y sin Diabetes motivo del estudio.

VARIABLE	Grupo DM n= 90	Grupo Control n= 90	P*
Glucosa (mg/dL)	200.66 ± 94.26	108.53 ± 34.0	0.0001
Colesterol (mg/dL)	186.32 ± 42.37	172.38 ± 45.36	0.340
Triglicéridos (mg/dL)	205.04 ± 144.60	151.02 ± 114.92	0.006
HDL (mg/dL)	36.43 ± 8.82	42.46 ± 23.90	0.400
LDL (mg/dL)	107.04 ± 44.23	104.39 ± 34.91	0.667

LDL mg/dL		
≥ 100	60.0%	59.2%
<100	40.0%	40.8%
HDL mg/dL		
Bajo	24.4%	38.2%
Normal	75.6%	61.8%
Índice aterogénico		
≥ 3.75	95.6%	82.9%
<3.75	4.4%	17.1%

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.; HDL, Lipoproteínas de alta densidad.

En la tabla anterior se muestra que los pacientes del grupo DM tuvieron una frecuencia más alta de colesterol, triglicéridos y del índice aterogénico en comparación con el grupo control.

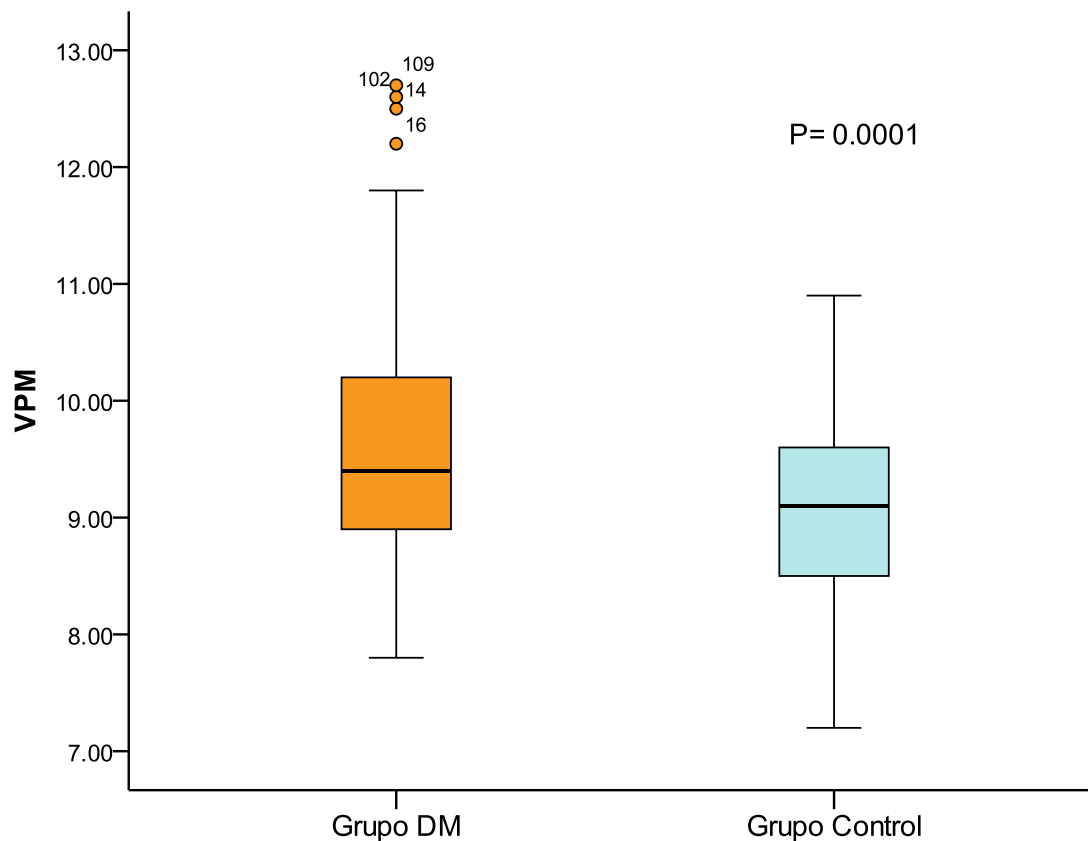


Figura 3. Concentraciones del VPM en el Grupo DM y en el grupo control.

El VPM fue más alto y estadísticamente significativo en el Grupo DM (9.63 ± 1.03 fL) en comparación con el grupo control (9.01 ± 0.90 fL).

Se analizaron las concentraciones del VPM de acuerdo con los factores de riesgo cardiovasculares (Figura 4).

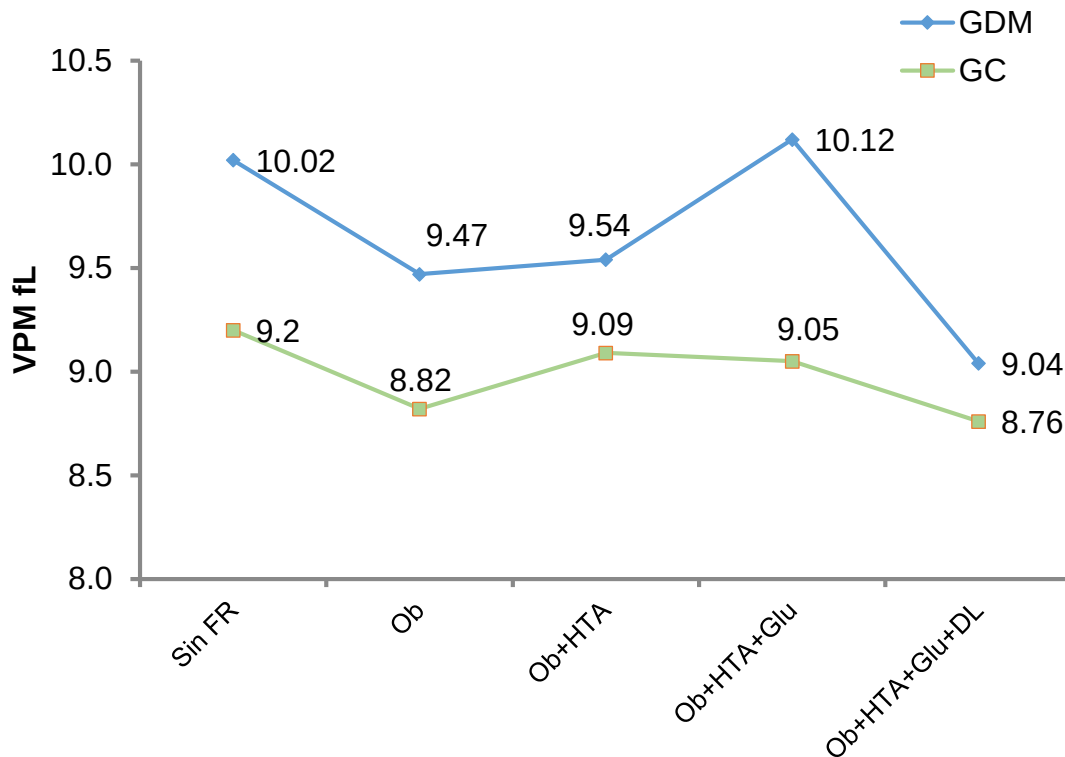


Figura 4. Concentraciones del VPM de acuerdo a los factores de riesgo cardiovascular en pacientes con y sin diabetes.

En la gráfica podemos observar que las concentraciones del VPM en el Grupo DM están más altas con respecto al número de factores de riesgo cardiovascular, sobretodo se observa en la Figura un incremento importante al conjuntarse la obesidad, la hipertensión arterial y la hiperglucemia, en tanto en el grupo control no se muestra ningún incremento considerable al incrementar el número de factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo es destacable que aun sin factores de riesgo cardiovascular los pacientes con DM tienden a tener cifras altas del VPM.

Se encontró una frecuencia de VPM alto (≥ 10 fL) en el Grupo DM de 12.8% y en el Grupo control de 16.1%.

Al realizar un análisis de correlación entre el VPM y las variables pertenecientes al riesgo cardiovascular, se encontró solo una asociación positiva entre el volumen plaquetario medio y la glucosa sérica en los pacientes en estudio (Figura 5).

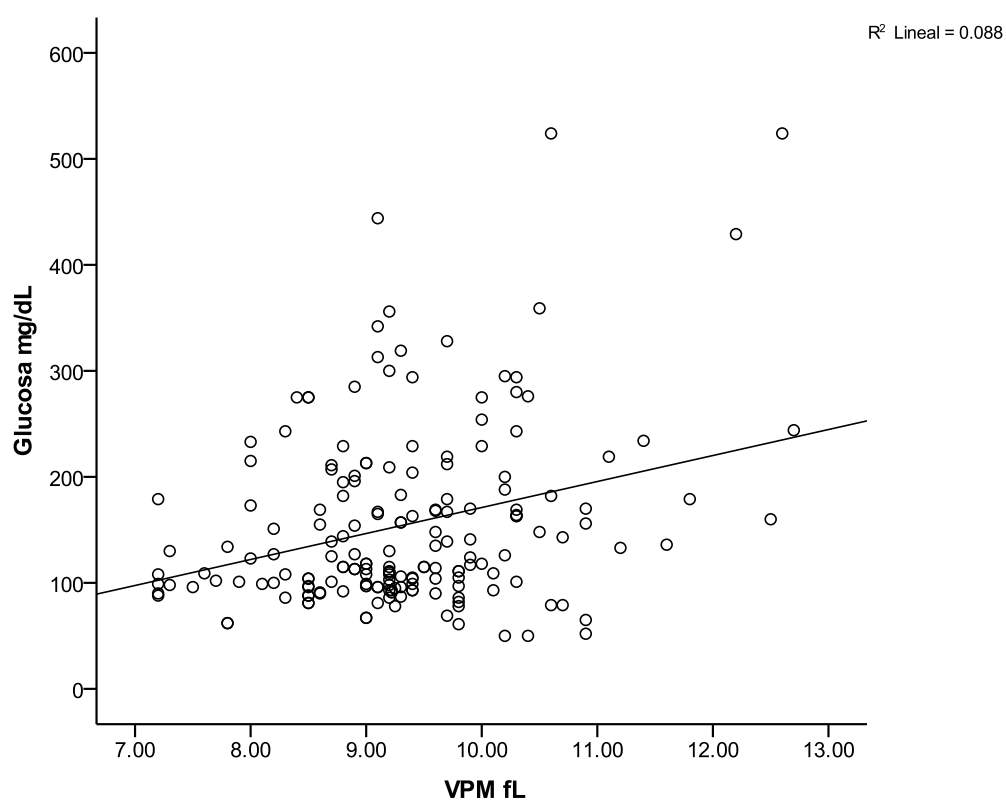


Figura 5. Correlación entre el Volumen plaquetario medio y la glucosa sérica en los pacientes en estudio.

En la figura anterior se muestra que a más cifras de VPM mayores concentraciones de glucosa tendrán los pacientes.

En la Figura 6 se muestra la asociación positiva del índice aterogénico y la glucosa en los pacientes en estudio.

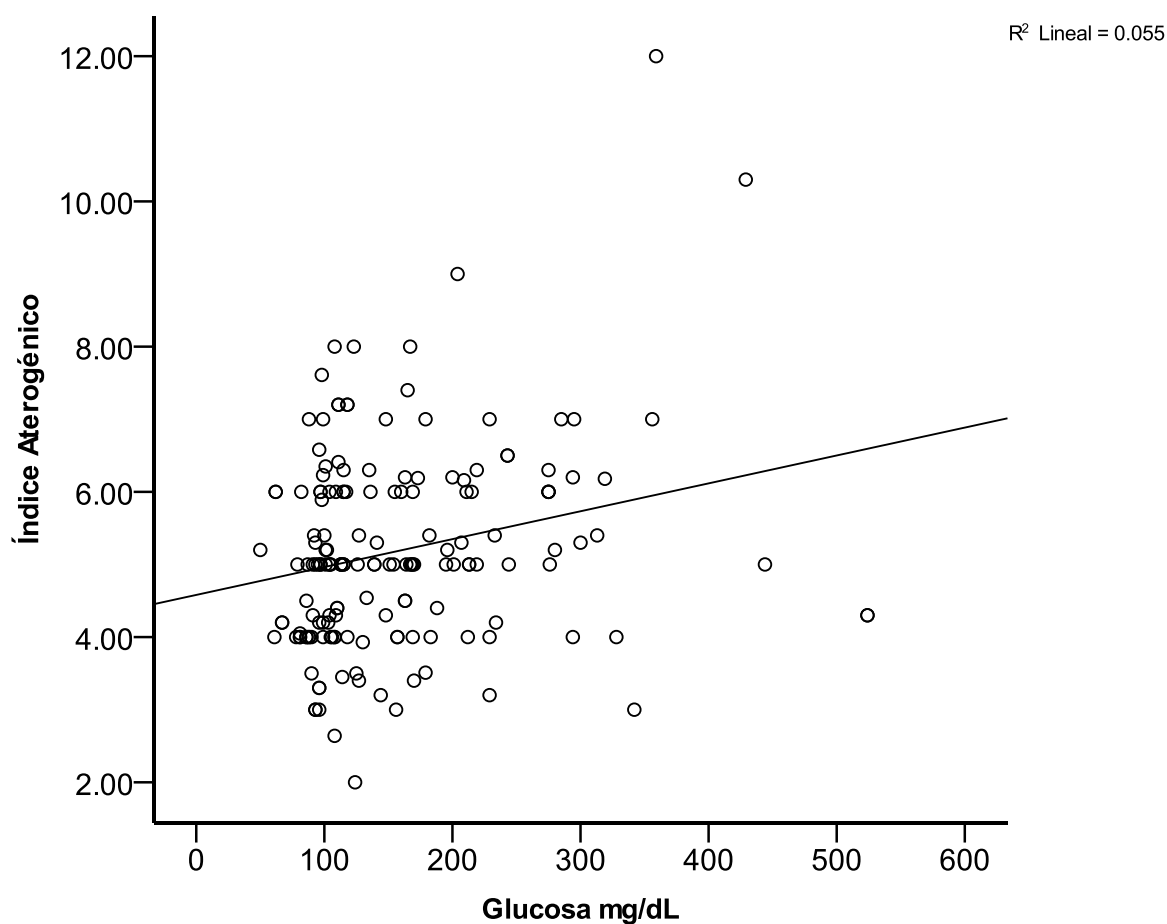


Figura 6. Correlación entre el Índice aterogénico y la glucosa sérica en los pacientes en estudio.

En la figura anterior se muestra que a mayor índice aterogénico los pacientes en estudio tienen una mayor concentración de glucosa sérica.

Al analizar el riesgo cardiovascular en los dos grupos de pacientes (Grupo DM y Grupo control) se encontró una mayor frecuencia de riesgo cardiovascular elevado en el grupo DM (Tabla 7).

Tabla 7. Categoría de Riesgo Cardiovascular en los grupos de estudio

	GRUPO	
	GRUPO DM	GRUPO CONTROL
Riesgo alto	12.4 %	10.5%
Riesgo moderado	13.5%	15.8%
Riesgo bajo	74.2%	73.7%

Tabla 8. Categoría de Riesgo Cardiovascular en el Grupo DM de acuerdo al VPM

	GRUPO DM	
	VPM $\geq$ 10	VPM <10
Riesgo alto	91.1%	13.4%
Riesgo moderado	4.5%	16.4%
Riesgo bajo <10%	86.4%	70.1%

Tabla 9. Categoría de Riesgo Cardiovascular en el Grupo control de acuerdo al VPM

	GRUPO CONTROL	
	VPM $\geq$ 10	VPM <10
Riesgo alto	5.9%	11.9%
Riesgo moderado	17.6%	15.3%
Riesgo bajo	76.5%	72.9%

Al realizar el análisis del riesgo relativo para determinar si el VPM alto se podría considerar como factor de riesgo cardiovascular en los pacientes con DM, encontramos que no se encontró la asociación de riesgo del VPM con la variable riesgo cardiovascular en el Grupo DM (RR: 0.453 IC95%: 0.148-1.391. X^2 2.272, $P=0.167$) ni en el Grupo control (RR: 0.862 IC95%: 0.318-2.336. X^2 0.088, $P=0.767$).

X. DISCUSIÓN

Uno de los principales objetivos de esta investigación fue determinar el VPM en pacientes con diabetes mellitus y verificar si este es un factor de riesgo cardiovascular.

Se conoce que el volumen plaquetario medio es un marcador de inflamación, trombosis y disfunción endotelial que ha adquirido importancia en relación a su significado en enfermedades que tienen como sustrato un componente inmunoinflamatorio y protrombótico.⁽⁵⁵⁾ De acuerdo a nuestros resultados observamos que un aumento de VPM no es un valor característico de personas con diabetes mellitus, ya que este puede estar o no elevado en la enfermedad. En este estudio observamos que cuando los pacientes diabéticos presentaban obesidad y/o hipertensión arterial, el VPM no se encontraba tan elevado (<10fL) como cuando se le adiciona el factor de riesgo hiperglucemia (VPM:10.12 fL), por lo que este tipo de pacientes con obesidad, hipertensión y descontrol glucémico tienden a presentar una patología más drástica como lo es un infarto agudo al miocardio pudiendo causar la muerte del paciente.

Dentro de la investigación también se puede observar que un 16.1% de los pacientes del grupo control presentaban un VPM elevado, mientras que un 12.8 % del grupo DM se encontraba alto, lo cual nos indica que los pacientes del grupo control presentaban una mayor probabilidad de tener una activación plaquetaria y posiblemente un incremento temprano de la activación plaquetaria y este evento puede estar relacionado con los procesos inflamatorios que preceden la manifestación clínica de la enfermedad.⁽⁵⁶⁾ Además estos pacientes control no

tenían alguna patología en específico lo que indica que no tenían prescrito ningún medicamento que pudiera modificar el volumen plaquetario medio.

El tamaño de las plaquetas y de la actividad plaquetaria pueden hasta cierto punto determinarse genéticamente. Varios estudios en humanos y en animales han demostrado que las características de las células de la sangre tienen una alta heredabilidad. Un reciente estudio de asociación del genoma ha identificado tres polimorfismos en tres genes candidatos diferentes que podrían modificar el proceso de formación de plaquetas y cada uno está fuertemente asociado con VPM. Uno de ellos es el cromosoma 7q22.3 en el cual se encuentra un locus genético que se asocia con el volumen plaquetario medio por lo que este locus es responsable de una pequeña fracción (1.5%) de la variabilidad total del volumen plaquetario medio atribuible a factores genéticos, lo que puede resultar, en ocasiones, en elevación de volumen plaquetario medio sin causa aparente como es el caso de nuestros pacientes pertenecientes al grupo control, confiriendo el mismo riesgo independiente de mal pronóstico y mayor prevalencia en enfermedades cardiovasculares y protrombóticas. Con respecto a esto, se han descrito variables genéticas en el gen de la histona desmetilasa JMJD1C y polimorfismos de nucleótido único o SNP en el alelo rs81092888 del gen TMP4, que se asocian con volumen plaquetario medio mayor en caucásicos. Esta información propone una línea de investigación para estudios a futuro.

Actualmente, la evidencia científica sugiere al volumen plaquetario medio como un marcador pronóstico útil en pacientes con enfermedad cardiovascular, y su elevación se relaciona con eventos y desenlaces cardiovasculares adversos⁽⁵⁷⁾

además también puede estar elevado en los pacientes con consumo de tabaco, obesidad, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus e hiperlipidemia. De acuerdo a nuestros resultados, se encontró una correlación entre el volumen plaquetario medio y las concentraciones de glucosa esto puede ser debido a que la glucosa induce la traslocación de las proteínas cinasas hacia la membrana plaquetaria en la DM, y en particular de la proteína cinasa C (PCC), que está asociada con la agregación y secreción plaquetaria, por lo que estos procesos también están incrementados.⁽⁵⁸⁾

En algunos reportes se ha demostrado que existe una relación estrecha entre el volumen plaquetario medio y los factores de riesgo cardiovascular como: alteración de la glucosa en ayunas, diabetes mellitus, hipertensión, hipercolesterolemia, obesidad, síndrome metabólico, grasa corporal y también con la reducción rápida de peso.⁽⁵⁹⁾ Muscari y colaboradores realizaron una búsqueda sistemática para encontrar los determinantes del volumen plaquetario demostrando que la glucosa sérica, grasa corporal y cambios electrocardiográficos, son los principales factores independientes asociados al volumen plaquetario medio elevado. ⁽⁶⁰⁾

Por lo que se podría hacer que se tome más en cuenta la realización de este tipo de estudio y que en la actualidad se considere como una prueba de rutina y sobre todo como una prueba preventiva.

Numerosos factores genéticos y ambientales influyen en el riesgo cardiovascular, pero su contribución a la variabilidad de sus manifestaciones, más allá de los factores clásicos, está todavía por definir. El tabaquismo, la dislipidemia, la

diabetes y la hipertensión son factores de riesgo clásicos que interactúan de multiplicativa entre sí y con otras variables, como historia familiar de enfermedad prematura, obesidad, sobrepeso o sedentarismo, determinando la extensión y la evolución de la enfermedad cardiovascular. En nuestro estudio se encontró una frecuencia de riesgo cardiovascular alto en el Grupo con DM del 9.1% y en el grupo control de 11.9% ambos grupos con el volumen plaquetario medio mayor de 10 fL, lo que les confiere una llamada de alerta a estos pacientes por las complicaciones de trombosis o de algún infarto al miocardio que pudieran tener a futuro. Una de las limitantes de este estudio y de muchos estudios transversales es que no se les ha podido dar el seguimiento a estos pacientes para poder asociar de manera más fidedigna las variables de interés para el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

XI. CONCLUSIONES

- 1.- Estadísticamente el VPM no se encontró ser un factor de riesgo cardiovascular en los pacientes con estudio (Pacientes diabéticos).
- 2.- La frecuencia de riesgo cardiovascular y el VPM por arriba de 10 fL fue en el Grupo con DM del 9.1% y en el grupo control de 11.9%.
- 3.- Se encontró un incremento del VPM en aquellos pacientes con DM con los factores de riesgo obesidad, hipertensión arterial y glucosa.

XII. RELACION DE ANEXOS

Anexo 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION VOLUNTARIA EN PROYECTO DE INVESTIGACION CLINICA.

Morelia, Michoacán

a _____.

Yo _____

.

ACEPTO EN FORMA VOLUNTARIA PARTICIPAR en el proyecto de
Investigación titulado:

VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO COMO FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS

El objetivo de este trabajo es investigar si el volumen plaquetario medio como factor de riesgo cardiovascular en pacientes con diabetes mellitus

El volumen plaquetario medio es la medición geométrica del tamaño de las plaquetas Es un indicador de la activación plaquetaria y se ha reportado que aumenta en el infarto agudo de miocardio y los síndromes coronarios agudos. También se ha relacionado con mortalidad más elevada después del infarto de miocardio

Se me ha explicado que mi participación en este estudio consiste en acudir en ayuno para la extracción de una muestra sanguínea venosa, además de la toma de medidas de mi estatura, cintura y cadera, el registro de mi peso, mi presión arterial y para responder algunas preguntas referentes a mi estado de salud.

El investigador responsable me ha informado que el riesgo de la toma de muestra sanguínea consiste en la posible aparición de un moretón, y que el inconveniente principal es la molestia causada por la extracción. Mientras que el beneficio derivado de mi participación en el estudio consiste en conocer mi estado de salud, en especial si es que presento factores de riesgo cardiovascular.

El investigador se ha comprometido a comunicarme mis resultados, y si estos son anormales a sugerirme visitar a un médico para mi atención oportuna. También a responder cualquier pregunta o duda acerca de mi participación en la investigación, o cualquier asunto relacionado con la misma.

El investigador me ha asegurado que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados confidencialmente.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento si así lo considero conveniente.

_____	_____
Nombre y Firma del Paciente.	Investigador Responsable.
_____	_____
Testigo.	Testigo.

Morelia, Mich., a _____ de _____ de 2015.

ANEXO 2.



DATOS DEL PACIENTE



FECHA: _____

No. DE PACIENTE: _____ EDAD: _____

SEXO: _____ FUMADOR: _____ PESO: _____

TALLA: _____ CINTURA: _____ PA: _____

PARÁMETROS A EVALUAR

GLUCOSA: _____ LDL: _____

TRIGLICERIDOS: _____ HDL: _____

COLESTEROL: _____ VLDL: _____

LIP. TOTALES: _____ VPM: _____

OBSERVACIONES _____

Firma del paciente

firma de quien realizó

XIII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Wrigth JH: the origin and nature of blood plates, Boston Med Surg J.154:643.1906
- 2.- Harker LA, Finch CA: Thrombokinetiks in man. J Clin Invest 48:963,1969.
- 3.-Kuter DJ, Greenberg SM, Rosenberg RD: Analysis of megakaryocyte ploidy in rat bone marrow cultures. Blood 74:1952, 1989.
- 4.- Jackson CW, Brown LK, Somerville BC, et al,Two-color flow cytometric mesurament of DNA distributions of rat megakaryocytes in unfixed,infracationated marrow cell suspensions.Blood 63:768, 1991.
- 5.- lichtman MA. Chamberlain JK, Simon W, Santillo PA: Parasinusoidal location og megakaryocytes in marrow: a determinant of platelet reléase. Am J Hematol 4:303, 1978.
- 6.- Wright JH: The histogénesis of the blood plateles. J Morph 21:263, 1910.
- 7.- Odell TT, Jackson CW:Polyploidi and maturation of rat megakaryocytes. Blood 32:102, 1968.
- 8.-Williams N, Levine RF: The origin, developmentand regulation of megakaryocytes, Br J Haematol 52:173, 1982.
- 9.-Mazur EM, Hoffman R, Chasis J, et al: Immunofluorescent identification of human megakaryocyte colonies using an antiplatelet glycoprotein antiserum. Blood 57:227, 1981.

- 10.- Young KM, Weiss L: megakaryocytopoiesis: incorporation of tritiated thymidine by small acetylcholinesterase-positive cells in murine bone marrow during antibody-induced thrombocytopenia. *Blood* 69:290, 1987.
- 11.- Vinci G, Tabilio A, Deschamps JF, et al: immunological study of in vitro maturation of human megakaryocytes. *Br J Haematol* 56:589, 1984.
- 12.- Rabellino EM, Nachman RL, Williams N, et al: Human megakaryocytes: I, Characterization of de membrane and cytoplasmic components of isolated marrow megakaryocytes. *J Exp Med* 149:1273, 1979.
- 13.- Vainchenker W, Deschamps JF, Bastin JM, et al: Human megakaryocytes: I. Characterization of the membrane and cytoplasmic components of isolated marrow megakaryocytes. *J Exp Med* 59:514,1982.
- 14.- Nakahata T, Ogawa M; Identification in culture of a class of hemopoietic colony-forming unites whith extensive capability to self-renew and generate multipotential hemopoieric colonies. *Proc Natl Acad Sci USA* 79;3843, 1982.
- 15.- Fauser AA, Messner HA: identification of megakaryocytes, macrophages, and eosinophils in colonies of humans bone marrow containing neutrophilic granulocytes and erythroblast. *Blood* 53:1023,1979.
- 16.- Solar GP,Kerr WG,Zeigler EC, et al: Role of c-mpl in early hematopoiesis. *Blood* 92:4, 1998.
- 17.- Vigon I. Mornon J-P, Cocault L, et al: Molecular cloning and characterization of MPL, the human homolog of the v-mpl oncogene: Identification of a member of the

hematopoietic growth: factor receptor superfamily. Proc Natl Acad Sci USA 89:5640, 1992.

18.- Methia N, Louache F, Vainchenker W, Wendling F: Oligodeoxynucleotides antisense to the proto-oncogene c-mpl specifically inhibit in vitro megakaryocytopoiesis. Blood 82:1395, 1993.

19.- Long MW, Gragowski LL, Heffner CH, Boxer LA: Phorbol diesters stimulate the development of an early murine progenitor cell. The burst-forming unit-megakaryocyte. J Clin Invest 76:431, 1985.

20.- Briddell RA, Brandt JE, Straneva JE, et al: Characterization of the human burst-forming unit-megakaryocyte. Blood 74:145, 1989.

21.- Gewirtz AM, Hoffman R: Human megakaryocyte production: cell biology and clinical considerations. Hematol Oncol Clin North Am 4:43, 1990.

22.- Briddell RA, Hoffman R: Cytokine regulation of the human burst-forming unit-megakaryocyte. Blood 76:516, 1990.

23.- Metcalf D, MacDonald HR, Odartchenko N, Sordat B: Growth of mouse megakaryocyte colonies in vitro. Proc Natl Acad Sci USA 72:1744, 1975.

24.- Vainchenker W, Bouguet J, Guichard J, Breton-Gorius J: Megakaryocyte colony formation from human bone marrow precursors. Blood 54:940, 1979.

25.- Miyazaki HA, Inoue H, Yanagida M, et al: Purification of rat megakaryocyte colony-forming cells using a monoclonal antibody against rat platelet glycoprotein IIb/IIIa. Exp Hematol 20:855, 1992.

- 26.- Levine RB, Lamaziere J, Broxmeyer HE, et al: Human megakaryocyte: V, Changes in the phenotypic profile of differentiating megakaryocytes. J Exp Med 161:457, 1985.
- 27.- Nakeff A: Colony-forming unit, megakaryocyte its use in elucidating the kinetics and humoral control of the megakaryocytic committed progenitor cell compartment, in Experimental Hematology Today, edited by SJ Baum, DG Ledney, p 111 Springer New York. 1977.
- 28.- Macpherson GG: Origin and development of the demarcation system in megakaryocytes of rat bone marrow. J Ultrastruct Res 40; 162,1972.
- 29.- De Sauvage fj. Hass PE, Spencer SD et al: Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mp1 ligand. Nature 369:533,1994.
- 30.- Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P, et al: Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. Cell 77:1117, 1994.
- 31.- Foster DC Sprecher CA, Grant FJ, et al: human Thrombopoietin: genestructure, Cdna sequence, expression, and chromosomal localization. Proc Natl Acad Sci USA 91:13023,1994.
- 32.- Coller BS; Biochemical and electrostatic considerations in primary platelet aggregation. Ann NY Acad Sci 416:693, 1984.

- 33.- Walsh PN, Schmaier AH: Platelet-coagulant protein interaction, in hemostasis and thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, edited by RW Colman J Hirsh, VJ Marder, EW Salzman, 3rd ed, p629, JB. Lippincott, Philadelphia, 1993.
- 34.- Castle AG, Crawford N: Platelet microtubule subunit proteins. *ThrombHaemost* 42-1630,1979.
- 35.- Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-2494.
- 36.- Soranzo N, Rendon A, Gieger C, Jones CI, Watkins NA, Menzel S, et al. A novel variant chromosome 7q22.3 associated with mean platelet volume counts, and function. *Blood* 2009; 113: 3831-3837.
- 37.- Qayyum R, Snively BM, Ziv E, Nalls MA, Liu Y, Tang W, et al. A Meta-Analysis and Genome-Wide Association Study of Platelet Count and Mean Platelet Volume in African Americans. *PLoS Genetics* 2012; 8: 1-11
- 38.- Bath P, Algert C, Chapman N, Neal B, PROGRESS Group. Association of Mean Platelet Volume With Risk of Stroke Among 3134 Individuals With History of Cerebrovascular Disease. *Stroke* 2004; 35: 622-626.
- 39.- Donne A. De l'origine des globules du sang, de leur mode de formation et de leur fin. *Comptes Rendus Acad Sci* 1842; 14:366-9.
- 40.- American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care* 2016; 39(suppl1): S13-S22.

- 41.- Bessman JD, Gardner FH. Platelet size in thrombocytopenia due to sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 1983; 166; 177.
- 42.- Eldar A. Avitzour M. Or, R, Hanna R, Penchas S, Prediction of haemorrhagic diathesis in thrombocytopenia by mean platelet volumen. *BMJ* 1982; 283:397.
- 43.- Butkiewicz AM, Kemoni H, Dymicka –Pirkeka V, Matowicka-Karna, Radziwon P, Lipsa A. Platelet count, mean platelet volumen and thrombocytopenia by mean platelet volumen and trhompcytopoiesis índices in healthywomen and men. *Throm Res* 2006; 118:199-2004.
- 44.- Thompson CB. From precursor to product: how do megakaryocytes produces platelet? *Prog Clin Biol Res* 1986; 2015:361-71.
- 45.- El hoauari M, Rosado JA, Platelet signalling abnormalities in patients whit tipe 2 diabetes mellitus: a review. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 41:119-23
- 46.- WHO Study Group on Diabetes Mellitus, World Health Organization. Diabetes mellitus report of a WHO Study Group. Geneva: World Health Organization;1985.
- 47.- .Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20: 1183-97.
- 48.- Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26:3160-7.
- 49.- Engelgau MM, Colagiuri S, Ramachandran A, Borch-Johnsen K, Narayan KM. Prevention of type 2 diabetes: issues and strategies for identifying persons for interventions. *Diabetes Technol Ther*. 2004;6:874-82.

- 50.- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006;29Suppl 1:S43-8
- 51.- Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation end products: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology* 2000;23:50-62.
- 52.-Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol* 2001;6:91-8.
- 53.- Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2002;25(suppl 1):S5-S20.
- 54.- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42(6):1206.
- 55.- David G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-2494.
- 56.- Konieczkowki M, Skrinska VA. Increased synthesis of thromboxane A2 and expresion of procoagulant activity by monocytes in response to arachidonic acid in diabetes mellitus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001;65(3):133-8.
- 57.- Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 148-156.

58.- Assert R, Scherk G, Bumbure A, Pirag SV, Schatz H, Pfeiffer AF. Regulation of protein kinase C by short term hyperglycaemia in human platelets in vivo and in vitro. *Diabetologia* 2001;44:188-95.

59.- Pabón Osuna P, Nieto Ballesteros F, Moríñigo Muñoz JL, Sánchez Fernández PL, Arribas Jiménez A, Diego Domínguez M, et al. Influencia del volumen plaquetario medio sobre el pronóstico a corto plazo del infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 816-822.

60.- Muscari A, De Pascalis S, Cenni A, Ludovico C, Castaldini N, Antonelli S, et al. Determinants of mean platelet volume (MPV) in an elderly population: relevance of body fat, blood glucose and ischaemic electrocardiographic changes. *Thromb Haemost* 2008; 99:1079-1084.