



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR. IGNACIO CHÁVEZ”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN REGIONAL EN MICHOACÁN
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR N° 80**

TESIS QUE PRESENTA

**EFFECTO DE PIRIDOXINA, VITAMINA C, Y VITAMINA E EN LOS MARCADORES PARA
EVALUAR LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA FUNCIÓN
RENAL DEL PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2 TRATADO CON METFORMINA**

**SALDIVAR LÓPEZ JOSÉ ALFREDO
MEDICO CIRUJANO Y PARTERO**

**PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA FAMILIAR**

**TUTOR:
RAFAEL MEDINA NAVARRO
DOCTOR EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS
INVESTIGADOR TITULAR “A”**

**CO-TUTORES:
OLIVA MEJÍA RODRÍGUEZ
MAESTRA EN FARMACOLOGÍA CLÍNICA
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA FAMILIAR**

**BENIGNO FIGUEROA NÚÑEZ
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA FAMILIAR**

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO, MARZO DEL 2014



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**EFFECTO DE PIRIDOXINA, VITAMINA C, Y VITAMINA E EN LOS MARCADORES PARA
EVALUAR LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA FUNCIÓN
RENAL DEL PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2 TRATADO CON METFORMINA**

Dr. José Alfredo Saldivar López
Residente de Medicina Familiar

Dra. Oliva Mejía Rodríguez
Coordinadora Auxiliar Médica de Investigación en Salud Delegación Michoacán

Dr. Eduardo Hurtado Rodríguez
Auxiliar Médico de Educación

Dr. Rubén Ricardo García Jiménez
Director de la UMF No. 80

Dra. Mayra Edith Vieyra López
Coordinador Clínico de Educación en Salud UMF No. 80

Dr. José Ramón Sarabia Ramírez
Profesor Titular de la Residencia en Medicina Familiar UMF No. 80



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**EFFECTO DE PIRIDOXINA, VITAMINA C, Y VITAMINA E EN LOS MARCADORES PARA
EVALUAR LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA FUNCIÓN
RENAL DEL PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2 TRATADO CON METFORMINA**

Dr. José Alfredo Saldivar López
Residente de Medicina Familiar

Dr. Víctor Manuel Farías Rodríguez

Jefe de la División de Estudios de Posgrado
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez"
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Dr. Rafael Villa Barajas

Coordinador de la Especialidad en Medicina Familiar
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez"
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Este trabajo se realizó en la UMF No. 80 del Instituto Mexicano del Seguro Social, ubicada en Avenida Madero Pte. No. 1200, Col. Centro y, el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, en la Ciudad de Morelia Michoacán, México. Avalado por la UNAM y la UMSNH.

Investigador principal

José Alfredo Saldivar López

Médico Residente de la Especialidad de Medicina Familiar

Adscrito a la Unidad de Medicina Familiar No. 80

Instituto Mexicano del Seguro Social

Tutor

Dr. Rafael Medina Navarro

Doctor en Ciencias Bioquímicas

Director del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán

Co-tutores

Dra. Oliva Mejía Rodríguez

Maestra en Farmacología Clínica

Médico Especialista en Medicina Familiar

Coordinadora Auxiliar Médica de Investigación en Salud Delegación Michoacán

Dr. Benigno Figueroa Núñez

Maestro en Ciencias Médicas

Médico Especialista en Medicina Familiar

Asesor estadístico

Matemático Carlos Gómez Aragón

Coordinador Analista "A"

Centro de Investigación Biomédico de Michoacán

Colaboradores

QFB. Laura Rocha Barajas

Jefa del Laboratorio Clínico de la UMF 80

Dra. Martha Patricia Gómez Aragón

Centro de Investigación Biomédico de Michoacán

AGRADECIMIENTOS

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Instituto Mexicano del Seguro Social

Coordinación Delegacional de Educación

Coordinación Delegacional de Investigación

Unidad de Medicina Familiar No. 80

Personal directivo y administrativo de la UMF No. 80

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán

Dr. Rafael Medina Navarro

Doctor en ciencias biomédicas

Director del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán

Dra. Oliva Mejía Rodríguez

Médico Especialista en Medicina Familiar

Maestra en Farmacología Clínica

Coordinadora Auxiliar Médica de Investigación en Salud Delegación Michoacán

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a toda mi familia, especialmente a mi esposa Alelid por ser siempre tan paciente y por apoyarme durante toda mi carrera, por estar siempre pendiente de mi, por cuidar de nuestro hijo Elier y por su amor incondicional. También se lo dedico a mis padres y mis hermanos que me han apoyado desde siempre tanto moral como económicamente, ya que sin su ayuda no habría podido llegar hasta donde estoy ahora.

Dedico este trabajo a mis compañeros y amigos de la residencia que me alentaron durante estos tres años y que se han convertido en mis hermanos y con los cuales compartimos tantos momentos juntos.

Por último le dedico mi trabajo a mis profesores que me han enseñado y guiado en esta etapa de mi carrera profesional, especialmente a mis coordinadores y a mis tutores de tesis el Dr. Rafael Medina y la Dra. Oliva Mejía, así como todos aquellos que han hecho posible que este trabajo se llevara a cabo.

ÍNDICE

Contenido	Páginas
Resumen -----	2
Abstract -----	3
Abreviaturas -----	4
Glosario -----	5
Relación de cuadros y figuras -----	7
Introducción -----	8
Antecedentes -----	9
Planteamiento del problema -----	20
Justificación -----	21
Hipótesis -----	22
Objetivos -----	22
Material y métodos -----	23
Resultados -----	35
Discusión -----	45
Conclusiones -----	48
Sugerencias -----	49
Limitaciones -----	49
Referencias -----	50
Anexo1 -----	56
Anexo 2 -----	59
Anexo 3 -----	60
TOTAL DE PÁGINAS	63

RESUMEN

Antecedentes:

En la diabetes se produce aumento en la producción de radicales libres y disminución de defensas antioxidantes naturales. Así, las especies reactivas del oxígeno contribuyen a la aparición de nefropatía diabética. Diversos trabajos han señalado la importancia de las citoquinas inflamatorias como elementos determinantes del daño microvascular en la diabetes, específicamente de la nefropatía diabética. El empleo de vitamina E y C se ha propuesto como tratamiento para disminuir el estrés oxidativo. Se ha observado que la piridoxina disminuye los marcadores de respuesta inflamatoria.

Objetivo: Determinar el efecto de la piridoxina, vitamina C y E asociados a metformina en la respuesta inflamatoria, estrés oxidativo y función renal, en pacientes diabéticos tipo 2.

Material y métodos: Ensayo clínico, prospectivo. Se incluyeron 54 pacientes con diabetes tipo 2 tratados con metformina que fueron asignados a uno de dos grupos; al grupo de intervención les administramos piridoxina, vitamina C y vitamina E durante 6 meses y al grupo control sólo metformina, se determinaron al inicio, a los 3 y 6 meses marcadores de control glucémico, control metabólico, respuesta inflamatoria, estrés oxidativo y función renal. En el análisis estadístico los datos se presentaron como medidas \pm desviación estándar y porcentaje para las variables cuantitativas y en frecuencias para las cualitativas. Se aplicó el modelo de medidas repetidas a fin de comparar basal, 3 y 6 meses y la t-student para las variables con 2 determinaciones. La significancia estadística se aceptó una $p < 0.05$.

Resultados: Se observó una disminución significativa de la HbA1c% ($p = .012$) y del TNF α ($p = .000$), así como una tendencia a la disminución de la proteinuria, albuminuria y de IL-6 y un aumento discreto del PAO.

Conclusiones: El uso de vitamina E, vitamina C y piridoxina asociadas a metformina en el paciente diabético disminuye en forma significativa la HbA1c% y e TNF alfa lo que sugiere que mejora el control glucémico y disminuye la respuesta inflamatoria por lo que indirectamente podría retardar la aparición de la nefropatía diabética.

Palabras clave: Piridoxina, vitamina c, vitamina e, estrés oxidativo, diabetes mellitus, nefropatía.

ABSTRACT

Background:

Diabetes occurs in increase in free radical production and decreased natural antioxidant defenses. Thus, reactive oxygen species contribute to the development of diabetic nephropathy. Several studies have indicated the importance of inflammatory cytokines as determinants of microvascular damage in diabetes, especially diabetic nephropathy. The use of vitamin E and C has been proposed as a treatment to reduce oxidative stress. It has been observed that pyridoxine decreases inflammatory markers.

Objective: To determine the effect of pyridoxine, vitamin C and E associated with metformin in the inflammatory response, oxidative stress and renal function in type 2 diabetic patients.

Material and methods: Clinical Trial, prospective. We analyzed 54 patients with type 2 diabetes treated with metformin were assigned to one of two groups: the intervention group will administer pyridoxine, vitamin C and vitamin E for 6 months and the control group only metformin, were determined at baseline, 3 and 6 months markers of glycemic control, metabolic control, inflammatory responses, oxidative stress and renal function. In the statistical analysis the data were presented as measures \pm standard deviation and percentages for quantitative variables and frequencies for qualitative variables. Was applied repeated measures model to compare baseline, 3 and 6 months, the t-student for variables with 2 determinations. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$.

Results: There was a significant decrease in HbA1c% ($p = .012$) and TNF α ($p = .000$), and a tendency to decreased proteinuria, albuminuria and IL 6 and a modest increase in PAO.

Conclusions: The use of vitamin E, vitamin C, and pyridoxine associated with metformin in diabetic patients significantly decreases HbA1c% and TNF alpha suggests that improved glycemic control and reduces the inflammatory response which could delay indirectly onset of diabetic nephropathy.

Keywords: pyridoxine, vitamin C, vitamin E, oxidative stress, diabetes mellitus, nephropathy.

ABREVIATURAS

AGEs: Productos avanzados de la glicosilación
DAG: Diacilglicerol
DM: Diabetes mellitus
ECV: Enfermedad cardiovascular
ERAD: Enfermedad renal crónica asociada a diabetes
ERC: Enfermedad renal crónica
ERO/ROS: Especies reactivas de oxígeno
FC: Frecuencia cardíaca
HAS: Hipertensión arterial sistémica
HbA1c%: Hemoglobina glucosilada
HDL: Colesterol de alta densidad
IL-1: Interleucina 1
IL-6: Interleucina 6
IMC: Índice de masa corporal
IRCT: Insuficiencia renal crónica terminal
LDL: Colesterol de baja densidad
NADH: Adenin dinucleótido reducido
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PAD: Presión arterial diastólica
PAO: Potencial antioxidante
PAS: Presión arterial sistólica
PCR: Proteína C reactiva
PKC: Protein quinasa C
PLP: 5 fosfato de piridoxal
RAGE: Receptor de productos avanzados de la glicosilación
SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
TFG: Tasa de filtración glomerular
TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa

GLOSARIO

Albuminuria: Es un proceso patológico manifestado por la presencia de albúmina en la orina. La albuminuria indica un fallo renal, por fracaso en el filtrado de moléculas grandes, como es el caso de la albúmina.

Antioxidante: Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.

Citoquinas: Son proteínas que regulan la función de las células que las producen u otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Dienos conjugados: Moléculas que se utilizan para medir el daño de la membrana celular producido por lipoperoxidación.

Especies reactivas de oxígeno: (ERO o ROS por reactive oxygen species) incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos tanto inorgánicos como orgánicos. Son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada. En épocas de estrés ambiental sus niveles pueden aumentar en gran manera, lo cual puede resultar en daños significativos a las estructuras celulares. Esto lleva en una situación conocida como estrés oxidativo.

Estrés oxidativo: Es la alteración en el balance entre pro oxidantes y antioxidantes.

Grupos carbonilos: Marcadores de estrés oxidativo que se producen por daño oxidativo sobre las proteínas.

Hemoglobina glucosilada (Hba1c%): Es una heteroproteína de la sangre que resulta de la unión de la hemoglobina con carbohidratos libres unidos a cadenas carbonadas con funciones ácidas en el carbono 3 y el 4, que es utilizada en la diabetes para saber si el control que realiza el paciente sobre la enfermedad ha sido bueno durante los últimos tres o cuatro meses.

Interleucina 6 (IL-6): Es una glucoproteína segregada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Localizado en el cromosoma 7, su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF α . Es una citocina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria.

Piridoxina: Es una vitamina hidrosoluble, cuya función es la síntesis de carbohidratos, proteínas, grasas y, la formación de glóbulos rojos, células sanguíneas y hormonas. Al intervenir en la síntesis de proteínas, lo hace en la de aminoácidos, y así participa en la producción de anticuerpos.

Potencial antioxidante (PAO): Este parámetro puede ofrecer una idea de cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante ante cada agresor oxidativo en cada sistema.

Proteinuria: Es la presencia de proteína en la orina en cuantía superior a 300 mg en orina de 24 horas.

Radicales libres: Es una especie química (orgánica o inorgánica), en general es extremadamente inestable y, por tanto, con gran poder reactivo por poseer un electrón desapareado.

Vitamina C: Es una vitamina hidrosoluble y potente antioxidante, actuando para disminuir el estrés oxidativo; un substrato para la ascorbato-peroxidasa, así como un cofactor enzimático para la biosíntesis de importantes bioquímicos.

Vitamina E o alfa tocoferol: Es una vitamina liposoluble que actúa como antioxidante a nivel de la síntesis del pigmento hemo, que es una parte esencial de la hemoglobina de los glóbulos rojos. Todas las acciones de los tocoferoles parecen estar determinadas por su carácter de agente antioxidante, y que en particular previene las reacciones de peroxidación de lípidos

RELACIÓN DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro I. Características generales de la población al inicio del estudio

Cuadro II. Características generales basales de ambos grupos de estudio.

Cuadro III. Comparación de las variables clínicas entre los grupos con el modelo de medidas repetidas.

Cuadro VI. Comparación de las variables de función renal en el grupo experimental y control con el modelo de medidas repetidas.

Cuadro V. Comparación basal y a los 6 meses de las variables de control glucémico en el grupo experimental.

Cuadro VI. Comparación de las variables de función renal en el grupo experimental y control con el modelo de medidas repetidas.

Cuadro VII. Comparación basal y a los 6 meses de las variables de función renal en el grupo experimental.

Cuadro VIII. Comparación basal y a los 6 meses de los marcadores de estrés oxidativo y respuesta inflamatoria en el grupo experimental.

Cuadro IX. Dosis de medicamentos utilizados por los pacientes de ambos grupos

Figura 1. Distribución de los pacientes por género en ambos grupos.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la prevalencia de enfermedades crónicas se ha incrementado en forma alarmante y se han convertido en un problema de salud pública muy importante debido a los altos costos que genera su atención y a la morbimortalidad que generan tanto las mismas enfermedades como sus complicaciones. Entre estas enfermedades la diabetes tipo 2 ocupa uno de los primeros lugares, siendo sus complicaciones y entre ellas la nefropatía las causantes de ésta alta morbimortalidad.

La hiperglucemia es el hecho central en el desarrollo de las complicaciones asociadas a la diabetes, entre ellas la nefropatía diabética. Sin embargo, no es el único elemento implicado en la fisiopatología de ésta última. Hoy en día conocemos que la hiperglucemia y el incremento de la glucosa intracelular resultan en la activación de vías metabólicas alternativas, como la vía de los polioles, con la participación determinante de elementos enzimáticos como la aldosa reductasa. Del mismo modo, hemos sido capaces de identificar mensajeros intracelulares, como la proteína quinasa C, cuyo papel resulta crítico en el desarrollo de la nefropatía diabética. Conocemos la ruta de formación de los productos de glicosilación avanzada y cómo éstos interactúan con otros factores para producir el daño tisular. Hemos sido capaces de demostrar la participación del estrés oxidativo en la patogenia de esta complicación y su relación directa con la severidad del daño renal. Comprendemos mucho mejor cómo participan diversos factores de crecimiento (factor de crecimiento transformante, factor de crecimiento del endotelio vascular, factor de crecimiento del tejido conectivo) en la fisiopatología de la nefropatía diabética. Hemos disecado el papel crucial del sistema renina-angiotensina-aldosterona en la génesis y progresión del daño renal en el paciente diabético, y hemos puesto de manifiesto nuevas vías de interés fisiopatológico, como son las derivadas de la participación del fenómeno inflamatorio.

Este conocimiento va más allá de su importancia fisiopatológica dada su gran relevancia en cuanto a señalar nuevas dianas terapéuticas que, en muchos casos, han permitido diseñar estrategias terapéuticas con una clara traslación y aplicabilidad clínica. Es por esto que en el presente estudio se pretende ver el papel de estos nuevos tratamientos en la nefropatía diabética, específicamente de los antioxidantes vitamina C y E, así como el papel de la piridoxina en la respuesta inflamatoria.

ANTECEDENTES

Mundialmente la prevalencia de enfermedades crónicas se ha ido incrementando de una forma alarmante. Cerca de 18 millones de personas mueren cada año por enfermedades cardiovasculares, siendo los mayores factores predisponentes la diabetes y la hipertensión¹.

A pesar que en la actualidad disponemos de una gran variedad de herramientas de tratamiento efectivas para la diabetes tipo 2, las así llamadas “complicaciones microvasculares” (retinopatía y nefropatía) son responsables directas de la morbilidad más frecuente asociada a la diabetes tipo 2².

Al despuntar el siglo 21, se desencadenó la “Epidemia Global de Diabetes”, un fenómeno relacionado particularmente con la diabetes tipo 2, y que está teniendo lugar tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. En consecuencia, se estima que la prevalencia mundial de diabetes tipo 2 aumente desde los 171 millones que había en el año 2000, a una cifra de al menos 366 millones el año 2030³.

En la ENSANUT 2006 se encontró que la prevalencia de diabetes en México era de 14.4%. Y en un estudio realizado en el 2010 se estima una prevalencia de diabetes con diagnóstico previo de 7.34% y de 7.07% de casos nuevos, sumando una prevalencia de 14.42% representando 7.31 millones de casos a nivel nacional⁴.

La diabetes mellitus es un conjunto heterogéneo de síndromes de etiopatogenia multifactorial. El nexo común es el trastorno metabólico, fundamentalmente la hiperglucemia crónica, aunque también las alteraciones en el metabolismo lipídico y proteico. Dichas alteraciones son debidas a un déficit relativo o absoluto de insulina. Es característico el desarrollo de complicaciones crónicas, macrovasculares y microvasculares a largo plazo. De manera característica, el hecho sin duda determinante en la fisiopatología de las complicaciones asociadas a la diabetes mellitus lo constituye la presencia de una situación de hiperglucemia crónica, siendo evidente que un mal control glucémico constituye un predictor independiente del desarrollo y progresión de la enfermedad renal asociada a la diabetes (ERAD), así como de otras complicaciones de la enfermedad⁵.

El término de nefropatía diabética se propuso inicialmente para designar las lesiones que podían encontrarse en el riñón del diabético, actualmente se utiliza exclusivamente para señalar las lesiones renales originadas por afección microangiopática o de los pequeños vasos.

La primera descripción de proteinuria en pacientes diabéticos se atribuye a Cotunnus en 1770, pero fue Bright en 1836 quien estableció la relación entre proteinuria y enfermedad renal.

El reconocimiento del impacto que la diabetes tiene sobre el riñón se inicia en 1936 con las descripciones de los patólogos Kimmelstiel y Wilson acerca de la formación de nodulaciones hialinas en los glomérulos, basados en el estudio de 8 necropsias. A esta lesión se denominó glomeruloesclerosis nodular.

En 1942 Bell describe la glomeruloesclerosis difusa, diferenciándola claramente de la nodular, y señala la gran importancia de las lesiones arteriolares en la patogenia de la nefropatía diabética. El término de microangiopatía diabética fue propuesto por Lunbaeck en 1954, basándose en el hallazgo común de enfermedad de pequeños vasos tanto en la retinopatía como en la nefropatía diabética⁶.

EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad renal es la primera causa de muerte en la diabetes tipo 2. En el Instituto Mexicano del Seguro Social la nefropatía está dentro de las cinco primeras causas de atención médica en hospitales generales de zona y en los de alta especialidad. En los diabéticos tipo 2 la prevalencia de nefropatía diabética varía de un 39 a 50%.

La nefropatía diabética es la primera causa de insuficiencia renal en etapa terminal, tanto en México como en Estados Unidos. El costo directo de los cuidados de aquellos pacientes en los Estados Unidos, es aproximadamente de 5 billones de dólares al año y el costo se incrementa rápidamente⁷.

En México, la frecuencia de la enfermedad renal producida por la diabetes tipo 2 puede variar según la región y la fase en que son captados los pacientes, por ejemplo: el Registro de Diálisis y Trasplante de Jalisco (REDTJAL) muestra una frecuencia relativa de 51 %⁸. En algunas regiones se ha captado a los pacientes diabéticos en la fase de microalbuminuria; en la región de occidente se ha informado hasta 50 %, en la región noreste 75 % y en la región sur 35 %; en la región centro se ha informado un rango que va de 9 a 75 %^{9,10}.

La nefropatía diabética se ha definido clásicamente por la presencia de proteinuria >0.5 g/24 horas. Incluye un amplio espectro de alteraciones funcionales y estructurales a nivel glomerular, tanto vascular como parenquimatoso (glomeruloesclerosis difusa y nodular) y también a nivel tubular, cuyo daño progresivo evoluciona hacia la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT).

Actualmente, la nefropatía diabética se clasifica didácticamente en dos estadios basados en los valores de la excreción urinaria de albúmina: la fase de microalbuminuria (20-199 g/min. o 30-299 mg/24hrs) y la de macroalbuminuria (\geq 200 g/min. o >300 mg/24hrs). Una vez que la nefropatía se manifiesta, sin intervención específica, la tasa de filtración glomerular cae gradualmente durante un período de varios años a una tasa que es muy variable de un individuo a otro (2-20 ml/min por año)¹¹.

Se define la ERC como el daño renal o la tasa de filtración glomerular (TFG) <60 ml/min/1,73m² que se presentan durante 3 meses o mas, independientemente de la causa. Se puede determinar el daño renal en muchas nefropatías por la presencia de albuminuria, que a su vez se define como una relación albumina-creatinina > 30 mg/g en dos de tres muestras de orina al azar.

Se puede estimar la TFG a partir de la creatinina sérica calibrada y formulas de estimación, tales como la formula del Modification of Diet in Renal Disease Study (MDRD) o la formula de Cockcroft-Gault¹². Sin embargo, estas formulas pueden subestimar la TFG con el riesgo de asignar al paciente a estadios más avanzados de ERC. Recientemente en las guías K/DOQUI/KDIGO se publicó la nueva ecuación CKD-EPI, la cual ha demostrado mejoraría en la exactitud y precisión de las estimaciones, principalmente en los primeros estadios de la enfermedad^{13, 14}.

La enfermedad renal crónica se puede clasificar en diferentes etapas de acuerdo a la tasa de filtración glomerular, independientemente de la causa que la haya provocado, sin embargo la nefropatía diabética es la que más se ha estudiado, y diferentes autores y organizaciones la han clasificado para su estudio. Algunas de las clasificaciones mas utilizadas son:

Clasificación de Mogensen para la nefropatía diabética

- Etapa I. Hipertrofia e hiperfiltración glomerular. El aumento de tamaño renal, así como del filtrado glomerular, coincide con el descontrol metabólico del comienzo diabético, pero es reversible con el tratamiento insulínico adecuado.

- Etapa II. Aparecen lesiones funcionales y estructurales sin manifestar aún microalbuminuria. Esta etapa se caracteriza por un mal control glucémico, así como hiperfiltración glomerular (filtrado glomerular superior a 150 ml/min), concentraciones elevadas de prorenina sérica y de apoproteína A.

- Etapa III. Nefropatía diabética incipiente: aparece la microalbuminuria (excreción urinaria de albúmina entre 20 y 200 g/min que equivalen a 30-300 mg/24 h), el filtrado glomerular se mantiene normal, pero al final de esta etapa comienza a descender. La microalbuminuria permite predecir la nefropatía diabética, ésta se acompaña de retinopatía avanzada, neuropatía, trastornos lipídicos, control glucémico más deficiente e incremento del daño vascular aunque la filtración glomerular está todavía conservada.

- Etapa IV. Nefropatía diabética manifiesta. Se caracteriza por proteinuria persistente (excreción urinaria de albúmina superior a 200 g/min o 300 mg/ 24 h). El intervalo entre el inicio de la proteinuria puede variar desde pocos años hasta 20.

- Etapa V. Fallo renal.

Clasificación de la enfermedad renal crónica K/DOQUI / KDIGO

Esta clasificación se utiliza para estudiar al paciente con diabetes mellitus y realizar el diagnóstico de la enfermedad:

- Ausencia de enfermedad (etapa 0): no hay datos de daño renal.

- Etapa 1. Daño renal con filtrado glomerular normal o aumentado: filtrado glomerular igual o mayor a 90 ml/min/1,73 m² de superficie corporal.
- Etapa 2. Con disminución ligera del filtrado glomerular: filtrado glomerular de 89 a 60 ml/min/ 1,73 m² de superficie corporal.
- Etapa 3. Con disminución moderada del filtrado glomerular: filtrado glomerular de 59 a 30 ml/min/ 1,73 m² de superficie corporal.
- Etapa 4. Con disminución severa del filtrado glomerular: filtrado glomerular de 29 a 15 ml/min/ 1,73 m² de superficie corporal.
- Etapa 5. Fallo renal: filtrado glomerular menor de 15 ml/min/1,73 m² de superficie corporal ^{12, 15}.

FISIOPATOLOGÍA DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

La Hiperglucemia como factor determinante de las complicaciones microvasculares de la diabetes

A pesar del reconocimiento de la hiperglucemia como condición necesaria y principal elemento determinante del desarrollo de la nefropatía diabética, seguimos sin conocer completamente los mecanismos íntimos por los cuales la hiperglucemia conduce a la lesión renal, aunque sí tenemos certeza de la participación fundamental de diversos procesos que confluyen para iniciar los cambios funcionales y estructurales a nivel renal (ejemplo, hipertrofia glomerular, proliferación mesangial), y que van a conducir a una modificación de la hemodinámica corpuscular y la estimulación de procesos de proliferación e hipertrofia celulares.

La modificación de diversas moléculas por el ambiente hiperglucémico, con la formación final de los productos avanzados de la glicosilación (AGEs), juega un papel fundamental.

Así mismo, los niveles elevados de glucosa ejercen sus efectos tóxicos en el interior de las células a través de su incorporación por transportadores de glucosa, activándose una cadena enzimática de distintas reacciones que incluyen: formación de sorbitol, aumento de estrés oxidativo, activación de la protein kinasa C (PKC) y activación de la ruta de la hexosaminasa. Todas estas vías enzimáticas y metabólicas van a contribuir a la activación de citoquinas y de factores de crecimiento que participan de manera activa en la aparición y desarrollo de la ERAD¹⁶.

La vía de los polioles y actividad de la aldosa-reductasa

La aldosa reductasa es la primera enzima de la vía de los polioles, encargada de catalizar la reducción de una amplia variedad de compuestos carbonilo, incluyendo las hexosas. En presencia de hiperglucemia, y al aumentar la glucosa intracelular, se activa la aldosa reductasa con la producción creciente de sorbitol, lo que conlleva la consiguiente disminución de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH).

En todo este proceso tienen lugar cuatro fenómenos: (I) producción de sorbitol, (II) producción de fructosa, (III) disminución del NADPH, y (IV) aumento del nicotinamida adenin dinucleótido reducido (NADH), cuyas implicaciones describiremos a continuación.

El sorbitol mismo aumenta la presión osmótica intracelular y daña a los tejidos por edema celular. Además el sorbitol aumenta la relación NADH:NADH⁺, inhibiendo la actividad de la dehidrogenasa gliceraldehido trifosfato y aumentando la concentración de triosafosfato. Al elevarse las concentraciones de este compuesto se incrementa la formación de metilglioxal, un precursor de los AGEs, y de diacilglicerol (DAG), que activa la PKC.

Por otra parte, el consumo de NADPH favorece el estrés oxidativo al disminuir el cociente glutatión reducido/oxidado, lo cual acelera los procesos de glicosilación así como aumenta la actividad de la vía de las pentosas, activando a su vez a la PKC. En resumen, la activación de la AR no solo produce daño celular por si misma, sino que aumenta el daño producido por otros mecanismos como la activación de la PKC y la glicosilación proteica¹⁷.

La proteína kinasa C

La isoforma PKC- β 2 aumenta su actividad en las células endoteliales de retina y riñón cuando estas son expuestas a la hiperglucemia, debido al aumento en la síntesis de novo de DAG, un potente estimulador endógeno de esta enzima. PKC- β 2, a su vez, activa la fosfolipasa A2, aumentando así la producción de prostaglandina E2 y de Tromboxano A2. Estos últimos mediadores modifican drásticamente la permeabilidad endotelial y la respuesta a la Angiotensina II en el musculo liso vascular, cambios importantísimos en la génesis del daño renal presente en la diabetes¹⁸.

Productos avanzados de la glicosilación

La glicosilación avanzada es el proceso no enzimático por el cual se produce la unión de azúcares reductores como la glucosa, a diferentes moléculas como proteínas.

Este proceso tiene lugar en etapas sucesivas, las primeras son rápidas y reversibles, mientras que las finales son lentas e irreversibles:

- 1) La asociación del azúcar con la proteína, que resulta de la adición del grupo carbonilo del azúcar al grupo amino de la proteína, formando la denominada base de Schiff, estable por un corto tiempo.
- 2) Reordenamiento de los enlaces químicos, dando lugar a un producto más estable denominado genéricamente producto de Amadori.
- 3) El compuesto de Amadori sufre una serie de transformaciones que conducen a la formación de los AGEs¹⁹.

Los AGEs se han relacionados con diferentes efectos a nivel renal, como la modificación de componentes estructurales de la membrana basal o de la matriz extracelular. Además, se han descrito receptores para estas moléculas (RAGE) que se expresan en diferentes localizaciones renales, incluyendo podocitos, células endoteliales y musculares lisas, células mesangiales y células epiteliales tubulares. La unión a estos receptores determina la activación de diversas vías de señalización intracelular, con la subsiguiente generación de especies reactivas de oxígeno, la activación de factores de transcripción como el factor nuclear kappa B, la liberación de citoquinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral- α (TNF α) o las interleucinas 1 y 6, la expresión de moléculas de adhesión y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento vascular endotelial, elementos todos ellos que han sido relacionados con la patogenia del desarrollo y progresión de la nefropatía diabética²⁰.

Estrés oxidativo

La alta actividad metabólica del riñón determina la generación de una importante cantidad de moléculas oxidantes, entre las que destacan las especies reactivas de oxígeno (ROS), como el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido. Todas las estructuras renales son susceptibles de sufrir daño oxidativo.

En la nefropatía diabética ha sido demostrada la relación directa entre la severidad de la lesión renal y el grado de estrés oxidativo. Así, pacientes diabéticos con nefropatía establecida exhiben un mayor grado de daño oxidativo del ADN que pacientes con microalbuminuria, mientras que pacientes con un aumento en la excreción urinaria de albumina muestran mayores niveles de peroxidación lipídica que sujetos con normoalbuminuria. Documentos histológicos demuestran la presencia de productos de glico-oxidación y lipo-oxidación en la matriz mesangial y en las lesiones nodulares glomerulares de pacientes diabéticos.

Por otra parte, diversos estudios han observado que la actividad enzimática de superóxido dismutasa se encontraba reducida en sujetos diabéticos, indicando una asociación entre la alteración en la capacidad antioxidante y la nefropatía diabética²¹.

Un blanco frecuente del ataque de los radicales libres en el riñón son los lípidos de las membranas de las células renales, lo cual provoca la peroxidación de éstos, y altera la integridad y la función de estas membranas.

El estrés oxidativo puede afectar la función glomerular debido a su acción deletérea sobre las células mesangiales y endoteliales glomerulares; de hecho, se considera que el glomérulo es considerablemente más sensible al daño oxidativo que otros segmentos del nefrón, tales como el túbulo proximal.

Por otro lado, la acumulación de LDL oxidadas en el mesangio induce la proliferación y apoptosis de las células mesangiales. En el caso de las células tubulointersticiales, su exposición a las LDL oxidadas puede dañarlas. Se ha reportado también que los radicales libres inducen la expresión de genes de mediadores inflamatorios en las células del epitelio tubular renal, los que promueven el reclutamiento de leucocitos y macrófagos a este nivel, células que contribuyen a aumentar la lesión preestablecida²².

La intervención dirigida a reducir el estrés oxidativo ha sido postulada como una estrategia terapéutica de utilidad en la nefropatía diabética. Desde el punto de vista no farmacológico, la reducción de peso y la restricción de la ingesta de sodio han sido sugeridas como estrategias útiles²³.

En relación a las estrategias farmacológicas, se han empleado diversos antioxidantes para valorar su potencial beneficio como agentes renoprotectores. El empleo de vitamina E, vitamina C o ácido lipoico en modelos animales demostró efectos beneficiosos sobre la reducción del estrés oxidativo y la protección de estructuras renales frente a este daño. Sin embargo, la traslación clínica de estos resultados ha sido limitada. Estudios clínicos sugieren que las vitaminas C y E pudieran mejorar la función endotelial en los pacientes diabéticos, aunque no hay datos concluyentes en relación a los beneficios sobre la nefropatía diabética²⁴.

Inflamación y nefropatía diabética

La relación entre inflamación y las complicaciones de la DM es un tema de gran interés, existiendo hoy en día evidencia sobre la estrecha interrelación entre inflamación y nefropatía diabética. En los últimos años, diversos trabajos han señalado la importancia de las citoquinas inflamatorias como elementos determinantes del daño microvascular en la diabetes mellitus, y específicamente de la nefropatía diabética²⁵.

Interleucina 6

Esta citoquina proinflamatoria se asocia con significativos efectos a nivel renal: aumento de la permeabilidad endotelial, estimulación de la proliferación de las células mesangiales y aumento de la expresión de fibronectina por estas células. Suzuki y cols, han demostrado que la IL-6 se expresa en células glomerulares e intersticiales de pacientes con nefropatía diabética, y que dicha expresión puede estar relacionada con la proliferación mesangial y el daño renal en éstos pacientes²⁶.

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)

El TNF α es una molécula con actividades biológicas potencialmente implicadas en el daño renal del paciente diabético: efecto citotóxico directo sobre las células renales, inducción de apoptosis, alteración en la hemodinámica intrarenal, incremento en la permeabilidad endotelial o inducción de estrés oxidativo.

Los niveles de expresión del ARN mensajero del TNF α y de la proteína se encuentran aumentados en el riñón de animales diabéticos²⁷, relacionándose con las alteraciones iniciales en el desarrollo de la nefropatía diabética, como la hipertrofia renal y la hiperfiltración²⁸. Finalmente, estudios clínicos han constatado que pacientes con nefropatía diabética muestran mayores concentraciones de esta citoquina que pacientes diabéticos sin datos de nefropatía, con una relación directa e independiente con marcadores de daño glomerular y túbulointersticial²⁹.

La creciente importancia de los mecanismos inflamatorios en el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética señalan a este fenómeno como una diana terapéutica de potencial interés.

Piridoxina como estrategia para disminuir la respuesta inflamatoria

La piridoxina o vitamina B6, es uno de los cofactores esenciales para la función de las enzimas en varias actividades metabólicas, que incluyen el metabolismo de aminoácidos, grasas y de la glucosa. La vitamina B6 es en realidad un grupo de tres compuestos químicos llamados piridoxina (o piridoxol), piridoxal y piridoxamina. El ester de fosfato derivado del 5 fosfato de piridoxal (PLP) es la forma biológicamente activa de esta vitamina y refleja el almacenamiento a largo plazo del cuerpo³⁰. Diferentes estudios han demostrado que bajas concentraciones plasmáticas de PLP se asocian con mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV)³¹.

La observación de los efectos protectores de la vitamina B-6 en la ECV independiente de homocisteína sugiere que otros mecanismos pueden estar involucrados.

Los estudios bioquímicos han puesto de manifiesto algunos de los mecanismos subyacentes de los efectos cardioprotectores, tales como la regulación del metabolismo del colesterol, la inhibición de la agregación plaquetaria y la proliferación de células endoteliales. Datos recientes han demostrado que las concentraciones en plasma de PLP fue negativamente asociada con marcadores inflamatorios, que incluyen la proteína C-reactiva (PCR), fibrinógeno y el recuento de células sanguíneas.

Debido a la participación integral de la vitamina B-6 en la síntesis de ácidos nucleicos y por lo tanto en el ARNm y la síntesis de proteínas, la producción de citoquinas y mediadores de la inflamación durante la respuesta inflamatoria podría aumentar el uso de la PLP³². Además, bajas concentraciones de vitamina B-6 se presentan comúnmente en enfermedades con base inflamatoria fuerte, como la diabetes³³.

La presencia de enfermedades crónicas, tales como síndrome metabólico, la obesidad y la diabetes tipo 2, está fuertemente asociada con una menor concentración plasmática de PLP. Resultados de estudios sugieren que una baja concentración de PLP en plasma se asoció con mayor nivel de glucosa en ayunas y hemoglobina glucosilada, mientras que la mayor concentración de PLP en plasma se correlacionó significativamente con el índice HOMA mejorando la función de las células beta. Se ha demostrado que la deficiencia de vitamina B-6 causa cambios degenerativos en las células beta en los islotes de Langerhans con la consiguiente disminución de la insulina circulante³⁴. Por otra parte, la suplementación con piridoxina disminuye la glucosa en sangre y disminuye la hemoglobina glucosilada en pacientes diabéticos³⁵.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La nefropatía diabética es una de las complicaciones más temidas de la diabetes. Además del costo económico por su tratamiento, el impacto en el bienestar del paciente diabético y el hecho de que generalmente representa la progresión, hace que ésta represente en su estado terminal la complicación final del paciente con diabetes. Actualmente esta bien reconocido que la hiperglucemia es importante pero no suficiente para el desarrollo de nefropatía diabética. Muchos otros factores están involucrados, entre los que podemos destacar el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria.

La intervención dirigida a reducir el estrés oxidativo ha sido postulada como una estrategia terapéutica de utilidad en la nefropatía diabética. En relación a las estrategias farmacológicas, se han empleado diversos antioxidantes para valorar su potencial beneficio como agentes renoprotectores, aunque los resultados, en general, no han sido consistentes. El empleo de vitamina E, vitamina C o ácido lipoico en modelos animales demostró efectos beneficiosos sobre la reducción del estrés oxidativo y la protección de estructuras renales frente a este daño, sin embargo no hay mucha información sobre estos efectos en los seres humanos. Así mismo se ha visto que el tratamiento con vitamina B6 ha demostrado disminuir la concentración de marcadores de respuesta inflamatoria como proteína C reactiva, IL6 y TNF alfa, sin embargo no hay referencias del papel que juegan este tipo de medicamentos a nivel renal. Por lo que el presente estudio plantea resolver la siguiente interrogante:

¿Cuál es el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en los marcadores de respuesta inflamatoria, estrés oxidativo y la función renal en pacientes con Diabetes tipo 2?

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades crónicas se han convertido en uno de los problemas de salud pública más importantes debido a los altos costos de su tratamiento, entre estas enfermedades, la diabetes. En México a partir del año 2000, la diabetes es la primera causa de muerte en mujeres y la segunda en hombres (después de la cardiopatía isquémica, enfermedad resultante muchas veces de la diabetes) siendo la enfermedad renal la causa mas importante. Por lo que nuestro estudio es conveniente ya que con él se pretende saber si la suplementación de medicamentos antioxidantes como la vitamina C, la vitamina E y la piridoxina en pacientes con diabetes tipo 2 que están en tratamiento con metformina tiene un efecto benéfico en el control glucémico, el control metabólico y la función renal, frenando la progresión del daño provocado por la hiperglucemia, la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo que están presentes en la diabetes, con lo cual se beneficiarían primero los pacientes de nuestro estudio, luego las pacientes con diagnostico reciente de diabetes, mejorando su calidad de vida y evitando llegar a presentar en forma temprana complicaciones como la insuficiencia renal, que afectan tanto la economía como la calidad de vida de estos pacientes y sus familias. También se beneficiaría el Instituto Mexicano del Seguro Social y el sector salud en general ya que se disminuirían los costos que conlleva la atención de estos pacientes, así como de sus complicaciones como la insuficiencia renal que es uno de los problemas que genera mas costos en nuestro país y en todo el mundo; La nefropatía diabética es la primera causa de insuficiencia renal en etapa terminal, tanto en México como en Estados Unidos. El costo directo de los cuidados de aquellos pacientes en los Estados Unidos, es aproximadamente de 5 billones de dólares al año y el costo se incrementa rápidamente.

HIPÓTESIS

La vitamina C, vitamina E y piridoxina asociadas a metformina disminuye la respuesta inflamatoria, el estrés oxidativo y preserva la función renal del paciente con Diabetes tipo 2.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociadas a metformina en los marcadores de respuesta inflamatoria, estrés oxidativo y la función renal en el paciente con diabetes tipo 2.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en el control glucémico en pacientes con diabetes tipo 2.
2. Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en el control metabólico en pacientes con diabetes tipo 2.
3. Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en los marcadores de la función renal en pacientes con diabetes tipo 2.
4. Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en los marcadores de la respuesta inflamatoria en pacientes con diabetes tipo 2.
5. Determinar el efecto de la vitamina C, vitamina E y piridoxina asociados a metformina en los marcadores de estrés oxidativo en pacientes con diabetes tipo 2.

MATERIAL Y MÉTODOS

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Tipo de Investigación:

Experimental

Tipo de Diseño:

Ensayo clínico abierto.

Método de observación:

Longitudinal

Tipo de análisis:

Analítico

Temporalidad:

Prospectivo

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyeron individuos de la ciudad de Morelia y municipios circunvecinos derechohabientes IMSS adscritos a la unidad de medicina familiar 80 que cumplieron con los criterios de selección.

Los pacientes fueron asignados por conveniencia a uno de dos grupos, en el grupo de intervención se asignaron 30 pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 de menos de 10 años de evolución que estaban en tratamiento únicamente con metformina a requerimiento (850-2550 mg/día) para su control glucémico, a los que les administramos vitamina C 100 mg/día, vitamina E 400 mg/día y piridoxina 100 mg/día vía oral durante 6 meses. En el grupo control se asignaron 29 pacientes con diagnóstico reciente de diabetes tipo 2, o menos de 10 años de evolución que estaban en tratamiento únicamente con metformina a requerimiento (850-2250 mg/día) para su control glucémico.

Para el tamaño de muestra se estimó que era posible demostrarlo en un tamaño de muestra de 25 pacientes, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

Donde

n = es el tamaño de la muestra a obtener

N = población finita ó número de casos

e = error de estimación que está en condiciones de aceptar

Para el caso el total de derechohabientes diagnosticados con diabetes tipo 2 según censo de población adscrita atendidas de febrero a mayo 2012 de primera vez en la UMF No. 80 es de $N = 21,099$ pacientes

El error que estábamos dispuestos a tolerar fue de un 20 % (0.20) en error de muestreo entre entrevistar a los 21,099 derechohabientes y el tamaño que arrojará la fórmula de cálculo.

Sustituyendo en la fórmula * quedó:

$$n = \frac{21,099}{1 + 21,099 (0.20)^2}$$

$$n = \frac{21,099}{1 + 21,099 (0.04)}$$

$$n = \frac{21,099}{1 + 843.96}$$

$$n = 24.97$$

$$n = 25$$

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- a) Pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2.
- b) Pacientes diabéticos de 30 a 70 años de edad.
- c) Ambos sexos.
- d) Tiempo de evolución de la diabetes menor a diez años.
- e) Pacientes que estuvieran recibiendo tratamiento farmacológico con metformina.
- f) Pacientes con filtrado glomerular mayor a 60 ml/min/ 1.73 m² de superficie corporal.

Criterios de no inclusión:

- a) Pacientes con enfermedades adicionales que pudieran reducir sobrevida o confundir los resultados (SIDA, cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca, neoplasias, etc.).
- b) Pacientes que no fueron capaces de proveer información confiable durante la entrevista (demencia, dependencia al alcohol o a las drogas).
- c) Pacientes que no contaban con domicilio permanente o que no se localizaron por vía telefónica en su propia casa o con familiar.
- d) Pacientes que habían tomado esteroides u otros medicamentos que afectan al metabolismo de lípidos y los carbohidratos.

Criterios de exclusión:

- a) Pacientes que decidieron abandonar el estudio o suspender el tratamiento por cualquier causa.
- b) Pacientes con descompensación aguda de la diabetes, hipoglucemia, cetoacidosis, estado hiperosmolar.
- c) Pacientes que presentaron alguna reacción alérgica a los fármacos utilizados.
- d) Pacientes que abandonaron el tratamiento farmacológico.
- e) Pacientes que sufrieron cirugía mayor o enfermedad grave.
- f) Pacientes que ameritaron que se les agregara otro medicamento anti diabético, hipoglucemiante o insulina a su tratamiento habitual.

VARIABLES DE ESTUDIO

A.- Variable Independiente.

- Tratamiento con vitamina C (100 mg/día) + vitamina E (400 mg/día) + piridoxina (100 mg/día) + metformina.

B.- Variables Dependientes.

1. Control glucémico:
 - Glucosa sérica
 - Hemoglobina glucosilada (HbA1c%)
 - Insulina
 - Péptido C
 - HOMA
2. Control metabólico:
 - Colesterol total
 - Triglicéridos
 - Acido úrico
3. Función renal:
 - Creatinina sérica
 - Proteínas totales en orina
 - Albuminuria
 - Creatinina en orina
 - Relación albúmina/creatinina
 - TFG calculada con la formula de CKD-EPI.
4. Respuesta inflamatoria:
 - TNF α
 - IL-6
5. Estrés oxidativo:
 - Capacidad antioxidante (PAO)

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES DE ESTUDIO.

VARIABLE	DESCRIPCIÓN DE LA VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	PUNTO DE CORTE
Glucosa en ayuno	Monosacárido que representa la principal fuente de energía que se encuentra en plasma sanguíneo y resulta de al menos 8 hrs de ayuno.	Cuantitativa	mg/dl	70-110
HbA1c	Heteroproteína de la sangre que resulta de la unión de la Hb con carbohidratos libres unidos a cadenas carbonadas con funciones ácidas en el carbono 3 y 4.	Cuantitativa	%	< 6.5
Insulina	Es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, producida y secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas.	Cuantitativa	μU/ml	0.7-20
Péptido C	Cadena de aminoácidos (péptido) que forma parte de la proinsulina.	Cuantitativa	ng/dl	0.7-1.9
HOMA	Es un método para calcular la resistencia a la insulina y se calcula : insulina por glucosa entre 22.5	Cuantitativa	(μU/ml)(mg/dl)	Normal: 2.1-2.7 Intolerante a glucosa: 4.3-5.2 DM: 8.3-9.5
Colesterol	Es un lípido esteroide, molécula de ciclopentanoperhidrofenantreno (o esterano), constituida por cuatro carboxilos condensados o fundidos, denominados A, B, C y D	Cuantitativa	mg/dl	75-200

Triglicéridos	Son acilgliceroles, un tipo de lípidos, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificados sus tres grupos hidroxílicos por tres ácidos grasos, saturados o insaturados. Los triglicéridos forman parte de las grasas, sobre todo de origen animal.	Cuantitativa	mg/dl	75-200
Ácido úrico	El ácido úrico es un producto de desecho del metabolismo de nitrógeno en el cuerpo humano (el producto de desecho principal es la urea), y se encuentra en la orina en pequeñas cantidades.	Cuantitativa	mg/dl	2.5 - 6
Relación Albúmina/ creatinina en orina	Es un método que mide la cantidad de albúmina, en la orina. La cantidad de albúmina se compara con la cantidad de creatinina. Y se utiliza para medir la función renal.	Cuantitativa	Relación A/C mg/g	0 - 20
TFG (CKD-EPI)	Es el volumen de fluido filtrado por unidad de tiempo desde los capilares glomerulares renales hacia el interior de la cápsula de Bowman.	Cuantitativa	ml/min/m ²	Normal Hombres: 120 +/-14 Mujeres: 120 +/-10
Albuminuria	Es un método que busca cantidades pequeñas de albúmina en orina. La microalbuminuria es marcadora de enfermedad renal incipiente.	Cuantitativa	mg/L	< 30

TNF α	Es una proteína de fase aguda del grupo de las citocinas liberadas por las células del sistema inmunitario que interviene en la inflamación.	Cuantitativa	pg/ml	< 32
IL-6	Proteína que actúa como mensajero químicos a corta distancia sintetizada principalmente por los leucocitos. Su principal función es regular las funciones de células del sistema inmunitario.	Cuantitativa	pg/ml	79-108
Potencial antioxidante (PAO)	Determina la capacidad antioxidante de un fluido biológico medido a través de su potencial reductor.	Cuantitativa	μ mol de a.	450

DESCRIPCIÓN OPERATIVA DEL ESTUDIO

Previa autorización del protocolo por el Comité Local de Ética e Investigación. Se identificaron a los pacientes que reunieron los criterios de selección en los consultorios de atención de los médicos familiares de la Unidad de Medicina Familiar No.80 del IMSS en Morelia, Michoacán, turnos matutino y vespertino, además de los pacientes identificados en el módulo de PREVENIMSS.

Se citó a los pacientes en el consultorio de investigación de la unidad para darles a conocer el protocolo de estudio, solicitar la firma del consentimiento informado (anexo 1), llenado de ficha de identificación (anexo 2), y posteriormente se procedió a realizar:

1. **Historia clínica** (anexo 3).
2. **Exploración física:** que incluyó la toma de las siguientes mediciones:
 - a) Toma de presión arterial, bajo las condiciones establecidas en las guías de práctica clínica.

b) Mediciones antropométricas en las que se utilizó la siguiente técnica:

Constitución corporal a través de impedanciómetro TANITA. La cual se realizó con el paciente portando solo ropa interior, descalzo, de pie, con el cuerpo erguido en máxima extensión y cabeza erecta, ubicándose de espalda al estadímetro con los pies y rodillas juntas, tocando con los talones el plano del estadímetro. Programando el impedanciómetro para la medición de una persona sedentaria, se disminuyeron 300 gr al peso (por la ropa interior). En el que se incluyen los siguientes parámetros:

- Peso cuyo resultado se expresa en kilogramos (Kg)
- Talla cuyo resultado se expresa en metros (m)
- Índice de masa corporal (IMC) o de Quetelet que se calcula automáticamente en el impedanciómetro.
- Masa grasa en porcentaje, masa grasa en Kg, masa magra en Kg y, agua total en Kg.

3. Toma de muestras bioquímicas: Previo ayuno de 12 horas se recolectaron aproximadamente 20 ml de sangre venosa periférica para la determinación de hemoglobina glucosilada, insulina, IL-6, y capacidad antioxidante, así como una muestra de la primera orina de la mañana para la determinación de proteínas totales y albumina en orina, los cuales se procesaron en el laboratorio del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI); y para la determinación de glucosa, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos y ácido úrico, que se procesaron en el laboratorio de la UMF 80. de acuerdo a los siguientes procedimientos:

La determinación de glucosa, urea, creatinina, colesterol y triglicéridos se realizó a partir de una muestra de 4 ml en tubo BD vacutainer K2 con anticoagulante EDTA 7.2 mg. que se realizaron con método automatizado.

Para la determinación de la capacidad antioxidante del suero de los sujetos de estudio se implementó un sistema basado en la reducción cuantitativa de cobre. El valor de absorbencia que determina la capacidad reductora de la muestra se comparó con la de un estándar de ácido úrico hasta un límite de sensibilidad de $0.1 \mu\text{M}$. Las muestras obtenidas no rebasaran los 15 días de almacenamiento a -70 grados centígrados que estaban siempre libres de partículas insolubles.

Una vez puestas a temperatura ambiente, muestras y estándares se diluyeron hasta un rango aproximado de entre 1.5 y 100 μM de equivalentes estándar. El resultado se reportó entonces en equivalentes de ácido úrico.

Para la determinación de la Interleucina 6 (IL-6) se usó un anticuerpo monoclonal contra IL-6 inmovilizado sobre una placa de ELISA.

La muestra y el estándar se adicionaron a una placa a la cual se encuentra adherido un anticuerpo contra IL-6. La placa se incubó a 37 °C por espacio de una hora.

La placa se lavó extensamente quedando entonces el anticuerpo y la interleucina unidos a la placa. Una solución conteniendo un segundo anticuerpo contra IL-6 se adicionó; este se unió a la interleucina adherida a la placa. Un segundo periodo de incubación se inició de inmediato.

Un segundo ciclo de lavado se llevó a cabo para remover el anticuerpo no adherido a la placa. Un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa se adicionó, el cual se unió al primer anticuerpo contra IL-6 y un tercer periodo de incubación se inició.

Un tercer ciclo de lavado removió el exceso del anticuerpo secundario. Una solución conteniendo Tetrametilbencidina (TMB) se adicionó y una reacción catalizada por peroxidasa generó un color azul en la solución.

Una solución de paro conteniendo ácido clorhídrico detuvo la reacción tres minutos luego de su inicio. Un color amarillo resultante puede ser leído a 450 nm en un espectrofotómetro.

La intensidad de la señal determina el nivel de IL-6 en cada muestra cuando se correlaciona con una curva realizada con el estándar incluido en el ensayo.

La determinación del Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) se llevó a cabo utilizando una prueba de ELISA con un anticuerpo monoclonal inmovilizado.

Luego de un periodo de incubación de 2 horas a 37°C muestras y estándares quedaron adheridos al fondo de cada pozo en la placa de ELISA.

Un Primer ciclo de lavado se inició para remover perfectamente la muestra y el estándar adicionados previamente y no adheridos. Todo residuo húmedo se retiró con el uso de una toalla de papel secante. Un segundo anticuerpo biotinilado se adicionó, el cual se conjugó con la muestra y el estándar conjugados previamente y un segundo periodo de incubación se inició.

Un segundo ciclo de lavado se inició para retirar el exceso de anticuerpo para luego adicionar una solución conteniendo una peroxidasa conjugada con estreptavidina. Un tercer periodo de incubación se inició, esta vez de 30 minutos.

Se llevó a cabo un tercer ciclo de lavado para retirar el exceso de peroxidasa. Todo residuo húmedo se retiró con el uso de una toalla de papel secante. Una solución conteniendo Tetrametilbencidina (TMB) se adicionó y una reacción catalizada por peroxidasa generó un color azul en la solución.

Una solución de paro conteniendo ácido clorhídrico detuvo la reacción tres minutos luego de su inicio. Un color amarillo resultante pudo ser leído a 450 nm en un espectrofotómetro. La concentración de TNF- α se determinó por la intensidad del color y en relación a una curva realizada con el estándar de compuesto puro utilizado durante la prueba.

Para el examen de orina se le solicitó al paciente una muestra de la primera micción de la mañana, de la que se realizó análisis físico, químico y microscópico, el cual se procesó en el laboratorio de la UMF 80. Se envió al laboratorio especializado un tubo de captura con 1.5 ml de orina para la medición de proteínas totales y albúmina.

Esta evaluaciones se realizaron de la siguiente manera:

- Glucosa, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, y ácido úrico séricos: basal, a los 3 y 6 meses.
- HbA1c %, Insulina, Péptido C, HOMA, IL6, TNF- α y PAO séricas: basal y a los 6 meses.
- Albumina, proteínas totales y creatinina en orina: basal y a los 6 meses.

4. Intervención: Se otorgó a los pacientes del grupo de intervención tabletas de 100 mg de vitamina C, 400 mg de vitamina E y 100 mg de piridoxina para que las tomaran cada 24 horas durante 6 meses, y se les instruyó para que continuaran con su tratamiento antidiabético de base. Al grupo control sólo se le instruyó para continuar con su tratamiento antidiabético de base.

5. Seguimiento clínico: Se citó a los pacientes de los 2 grupos cada mes o por razón necesaria para evaluar la toma de los medicamentos y su control, en cada cita se evaluaron TA, peso, talla, y composición corporal. Así mismo se evaluaron signos y síntomas de descompensación de su enfermedad. En el grupo experimental además se evaluaron efectos adversos de los medicamentos administrados. Para evaluar la adherencia terapéutica a los pacientes del grupo experimental se les otorgó un envase con 90 tabletas de vitamina E, un envase con 90 tabletas de piridoxina al inicio y a los 3 meses y en cada mes un envase con 30 tabletas de vitamina C, se les solicitó a los pacientes que en cada visita llevaran los envases de los medicamentos para su conteo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como medidas \pm de desviación estándar y porcentaje para las variables cuantitativas y, en frecuencias y sus respectivos porcentajes para las cualitativas.

Se aplicó el modelo de medidas repetidas a fin de comparar basal, 3 y 6 meses y el modelo relacionado para la t-student para las variables con 2 determinaciones. La significancia estadística se aceptó un p valor < 0.05 .

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio cumplió con los principios éticos enumerados en la declaración de Helsinki para toda investigación médica.

Así mismo cumplió con los tres principios básicos de respeto a las personas, beneficencia y justicia de acuerdo al informe Belmont.

También cumplió con la Ley General de Salud en sus apartados:

- Título segundo: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, capítulo 1, artículos 13 a 27.
- Título tercero: De la Investigación de Nuevos Recursos Profilácticos, de Diagnósticos, Terapéuticos y de Rehabilitación, capítulo 1, artículos 62 y 64.
- Título quinto: De las comisiones internas en las instituciones de salud, capítulo único, artículos 98 a 112.

Se considera un estudio de riesgo mínimo.

Este estudio fue aprobado por el CLIEIS y se registró con el número R-2012-1602-13.

RESULTADOS

Se reclutaron 59 pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2, de 30 a 70 años de edad, ambos sexos, con tiempo de evolución de la diabetes menor a diez años, en tratamiento farmacológico con metformina, con filtrado glomerular mayor a 60 ml/min/1,73 m² de superficie corporal, que se asignaron a uno de dos grupos, 30 en el grupo de intervención y 29 en el grupo control. Del grupo de intervención se excluyeron cinco pacientes, uno porque se agregó glibenclamida a su tratamiento para su control glucémico, uno por cambio de domicilio a otra ciudad y tres porque decidieron no continuar con el estudio, quedando un total de 25 pacientes en este grupo y 29 en el grupo control para el análisis estadístico.

En cuanto a las características generales de la población total se observó una edad promedio de 55.54 ± 1.33 años, la edad mínima fue de 30 años y la máxima de 70 años, el tiempo de evolución de la diabetes promedio fue de 3.91 ± 0.28 años y la TFG media fue de 97.60 ± 1.35 ml/min/1.73 m². En el cuadro I se presenta un resumen de las características generales de la población al inicio del estudio.

Cuadro I. Características generales de la población total

Variable	Media	Mínimo	P10	P25	P50	P90	Máximo
Edad (años)	55.54 ± 1.33	30	41	48.75	57	67.50	70
Evol. de DM (años)	3.91 ± 0.28	1	1.65	2.15	3.05	7	9
Talla (m)	1.42 ± 0.09	1.42	1.44	1.50	1.55	1.71	1.76
Peso (kg)	72.37 ± 1.84	45	54.35	61.42	71.50	92.25	100.40
IMC (Kg/m ²)	29.66 ± 0.70	18.75	22.70	26	29.55	36.32	44.32
PAS (mmHg)	122.19 ± 1.12	100	110	119.50	120	130	130
PAD (mmHg)	77.96 ± 0.83	60	70	70	80	85	90
FC (latidos/min)	72.50 ± 0.53	65	68	70	70	78	82
Glucosa (mg/dl)	133.06 ± 6.73	84	92.50	104.50	120.50	180.50	366
TFG (ml/min/m ²)	97.60 ± 1.35	75.70	82.39	91.84	98.20	110.25	119.73

P10: Percentil 10, P25: percentil 25, P50: percentil 50, P90: Percentil 90

IMC: índice de masa corporal, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, FC: frecuencia cardíaca, TFG: Tasa de filtración glomerular calculada con la fórmula CKD-EPI.

En cuanto a las características generales basales por grupo, en el grupo de intervención se encontró que 8 (32%) pacientes fueron hombres y 17 (68%) fueron mujeres, mientras que en el grupo control 9 (31%) fueron hombres y 20 (69%) fueron mujeres, no encontrando diferencias significativas en cuanto a género entre los grupos ($p = 0.58$). En la Figura 1 se muestra la distribución de los pacientes por género en ambos grupos.

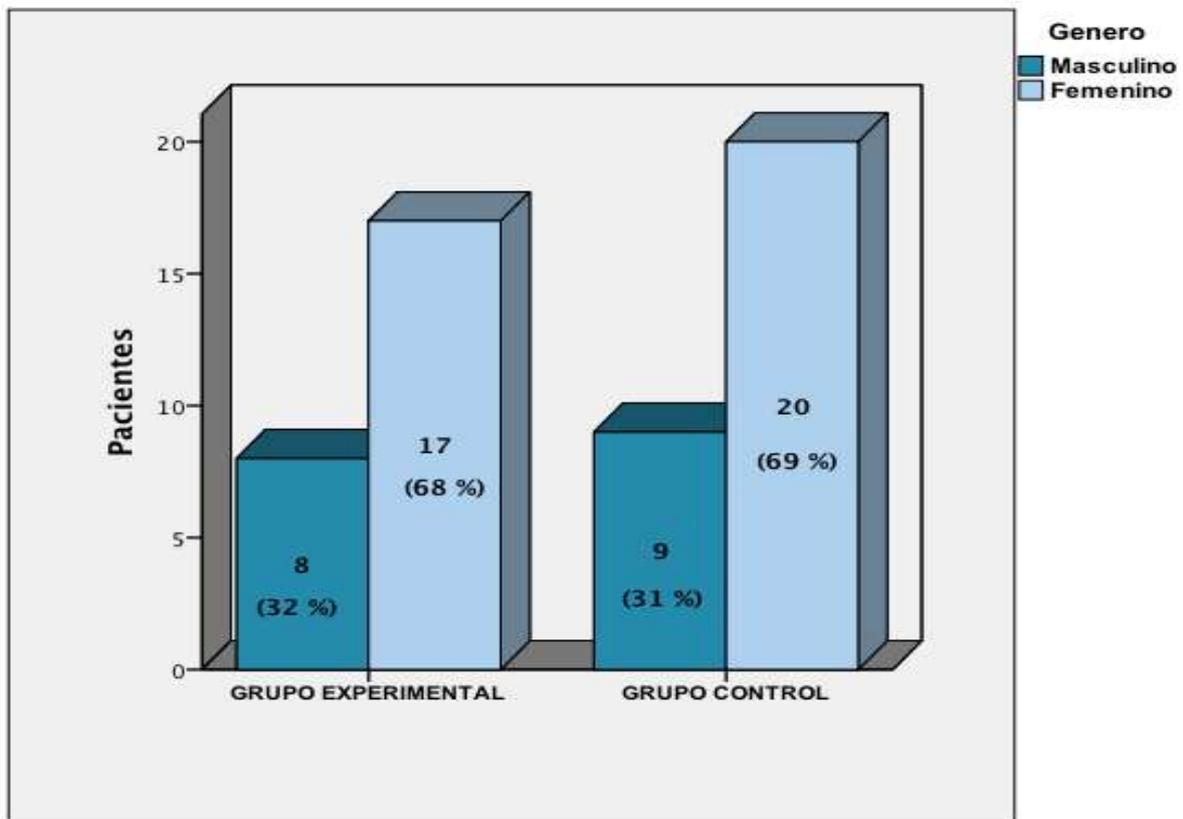


Figura 1. Distribución de los pacientes por género en ambos grupos.

En cuanto a las características basales por grupo, la edad promedio en el grupo de intervención fue de 56.9 ± 1.3 años, mientras que en el grupo control fue de 54.3 ± 2.1 años, el tiempo de evolución de la diabetes fue de 3.9 ± 0.4 años en el grupo de intervención y de 3.8 ± 0.3 años en el control, la TFG fue de 98.56 ± 2.14 ml/min/1.73m² en el grupo de intervención y de 96.78 ± 1.74 ml/min/1.73m² en el grupo control no observándose diferencias estadísticamente significativas en ninguna de éstas variables entre los grupos. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a peso, talla, IMC, masa grasa, masa magra, agua total, FC, PAS y PAD. De igual manera las variables glucosa, colesterol, triglicéridos y ácido úrico no presentaron diferencias significativas entre los grupos al inicio del estudio. En el cuadro II se muestran las características generales basales por grupo de estudio.

Cuadro II. Características generales basales por grupo de estudio

Variable	Grupo experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Grupo Control $\bar{X} \pm E.E.$	p
Edad (años)	56.96 \pm 1.33	54.31 \pm 2.19	NS
Evol. de DM (años)	3.96 \pm 0.45	3.87 \pm 0.36	NS
Talla (m)	1.57 \pm 0.02	1.55 \pm 0.01	NS
Peso (Kg)	73.07 \pm 2.80	71.77 \pm 2.47	NS
IMC (Kg/m²)	29.73 \pm 1.12	29.59 \pm 0.90	NS
Masa grasa (%)	36.43 \pm 1.84	34.47 \pm 1.42	NS
Masa grasa (Kg)	27.40 \pm 2.01	25.17 \pm 1.62	NS
Masa magra (Kg)	45.91 \pm 1.66	45.83 \pm 1.54	NS
Agua total (Kg)	33.62 \pm 1.22	34.24 \pm 1.17	NS
FC (latidos/min)	71.60 \pm 0.65	73.28 \pm 0.79	NS
PAS (mmHg)	122.80 \pm 1.71	121.66 \pm 1.49	NS
PAD (mmHg)	79.20 \pm 1.28	76.90 \pm 1.06	NS
Colesterol (mg/dl)	189.96 \pm 8.57	194.66 \pm 8.33	NS
Triglicéridos (mg/dl)	188.36 \pm 17.12	203.76 \pm 21.91	NS
Acido úrico (mg/dl)	5.36 \pm 0.25	5.48 \pm 0.23	NS
Glucosa (mg/dl)	126.12 \pm 7.66	139.03 \pm 10.66	NS
TFG (ml/min/m²)	98.56 \pm 2.14	96.78 \pm 1.74	NS

* Cifra estadísticamente significativa ($p < 0.05$). $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar, IMC: índice de masa corporal, FC: Frecuencia cardiaca, PAS: presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica, TFG: Tasa de filtración glomerular calculada con la fórmula CKD-EPI.

Variables clínicas

Clínicamente no se observaron diferencias significativas entre los grupos al realizar el análisis de medidas repetidas, sin embargo al analizar los grupos por separado en el grupo de intervención se observó un aumento estadísticamente significativo en el peso ($p=0.041$) una vez aplicado el modelo de medidas repetidas, encontrando la diferencia real entre el momento basal 73.07 ± 2.8 Kg y a los 6 meses 74.12 ± 2.8 Kg.

La variable de IMC que involucra el peso también se vio modificada en forma significativa ($p=0.044$) encontrando en el momento basal un IMC de 29.73 ± 1.1 y a los 6 meses de 30.15 ± 1.1 . De igual forma la masa magra se vio modificada en forma significativa ($p=0.001$) ya que su momento basal fue 45.91 ± 1.6 y a los 6 meses de 47.10 ± 1.7 . Lo mismo ocurrió con el agua total en los momentos basal 33.62 ± 1.2 y a los 6 meses 34.40 ± 1.2 ($p=0.0020$). En el cuadro III se presentan los resultados del análisis de las variables clínicas.

Cuadro III. Comparación de las variables clínicas entre los grupos con el modelo de medidas repetidas.

Variable	Basal		3 Meses		6 Meses		p
	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	
Peso (Kg)	$73.07 \pm 2.80^{\#}$	71.77 ± 2.47	73.64 ± 2.85	71.78 ± 2.44	$74.12 \pm 2.80^{\#}$	71.64 ± 2.41	0.41
IMC (Kg/m²)	$29.73 \pm 1.12^{\#}$	29.59 ± 0.90	29.94 ± 1.10	29.58 ± 0.88	$30.15 \pm 1.12^{\#}$	29.57 ± 0.85	0.25
Masa grasa (%)	36.43 ± 1.84	34.47 ± 1.42	36.43 ± 1.81	35.41 ± 1.45	35.92 ± 1.76	34.73 ± 1.41	0.36
Masa grasa (Kg)	27.40 ± 2.01	25.17 ± 1.62	27.68 ± 2.00	26.12 ± 1.64	27.23 ± 1.99	26.36 ± 1.66	0.23
Masa magra (Kg)	$45.91 \pm 1.66^{\#}$	45.83 ± 1.54	46.21 ± 1.58	45.18 ± 1.47	$47.10 \pm 1.67^{\#}$	44.79 ± 1.55	0.79
Agua total (kg)	$33.62 \pm 1.22^{\#}$	34.24 ± 1.17	33.83 ± 1.24	33.02 ± 0.99	$34.40 \pm 1.23^{\#}$	33.50 ± 1.02	0.14
FC (latidos/min)	71.60 ± 0.65	73.28 ± 0.79	70.96 ± 0.53	73.03 ± 0.73	70.92 ± 0.63	73.24 ± 0.73	0.73
PAS (mmHg)	122.80 ± 1.71	121.66 ± 1.49	120.48 ± 1.95	120.00 ± 1.28	122.40 ± 1.87	120.34 ± 1.35	0.09
PAD (mmHg)	79.20 ± 1.21	76.90 ± 1.12	79.20 ± 1.21	76.90 ± 1.12	80.60 ± 1.26	76.38 ± 1.17	0.84

* Diferencia significativa entre los grupos $p < 0.05$, # Diferencia significativa en el mismo grupo $p < 0.05$, FC: Frecuencia cardiaca, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar.

Control glucémico y metabólico

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en el control glucémico y metabólico al realizar el modelo de medidas repetidas. Sólo se observó una tendencia a la baja en la glucosa en ambos grupos, no siendo ésta significativa ($p = 0.15$), encontrando en el grupo experimental una glucosa de 126.12 ± 9.9 , 119.72 ± 5.4 y 115.4 ± 5.4 en los momentos basal, 3 y 6 meses respectivamente, mientras que en el grupo control se encontró una glucosa de 139.03 ± 9.1 , 126.48 ± 5.0 y 126.1 ± 5.0 en los momentos basal, 3 y 6 meses respectivamente. En la tabla IV se muestran los resultados de las medidas repetidas de control glucémico y metabólico.

Cuadro IV. Comparación de las variables de control glucémico y metabólico entre los grupos con el modelo de medidas repetidas.

Variable	Basal		3 Meses		6 Meses		p
	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	Experimental $\bar{X} \pm E.E.$	Control $\bar{X} \pm E.E.$	
Glucosa (mg/dl)	126.12 ± 9.90	139.03 ± 9.19	119.72 ± 5.45	126.48 ± 5.05	115.40 ± 5.46	126.10 ± 5.07	0.158
Colesterol (mg/dl)	189.96 ± 8.79	194.66 ± 8.16	189.68 ± 8.24	202.24 ± 7.65	183.08 ± 7.94	201.34 ± 7.37	0.44
Triglicéridos (mg/dl)	188.36 ± 20.86	203.76 ± 19.36	208.76 ± 30.33	211.03 ± 28.16	181.56 ± 18.65	187.44 ± 17.31	0.085
Acido úrico (mg/dl)	5.36 ± 0.25	5.48 ± 0.23	5.42 ± 0.24	5.61 ± 0.23	5.46 ± 0.23	5.70 ± 0.22	0.20

* Cifra estadísticamente significativa $p < 0.05$, $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar

Las variables HbA1c%, insulina, péptido C y HOMA sólo se analizaron en el grupo experimental y, sólo se midieron dos determinaciones (basal y a los 6 meses), por lo que se utilizó el modelo relacionado con la t-student para el análisis de éstas variables, observando una disminución estadísticamente significativa en la HbA1c% comparando el momento basal 6.89 ± 3.1 y a los 6 meses 6.34 ± 0.8 ($p = 0.012$); en cuanto a la insulina, péptido C y HOMA no se observaron diferencias significativas, sólo se observó una tendencia a la disminución en ellas, en el grupo control no se midieron estas variables. En el cuadro V se muestran los resultados de las variables de control glucémico que fueron analizadas sólo en el grupo experimental.

Cuadro V. Comparación basal y a los 6 meses de las variables de control glucémico en el grupo experimental.

Variable	Basal $\bar{X} \pm E.E.$	6 meses $\bar{X} \pm E.E.$	p
HbA1c (%)	6.89 ± 1.3	6.34 ± 0.8	.012*
Insulina ($\mu\text{U/ml}$)	9.40 ± 4.7	8.22 ± 4.7	.262
Péptido C (ng/dl)	2.38 ± 0.8	2.29 ± 0.9	.459
HOMA (mg/dl/ $\mu\text{U/ml}$)	2.71 ± 1.4	2.24 ± 1.2	.149

*Cifra estadísticamente significativa ($p < 0.05$) t-student, $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar, HbA1c%: Hemoglobina glucosilada.

Función renal

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en el modelo de medidas repetidas en lo que se refiere a las variables de función renal, encontrando en el grupo experimental una TFG basal de 98.56 ± 2.0 , a los 3 meses de 100.83 ± 2.2 y a los 6 meses de 99.73 ± 2.0 , mientras que en el grupo control se observó una TFG basal de 96.78 ± 1.8 , a los 3 meses de 98.95 ± 2.0 y a los 6 meses de 96.98 ± 2.0 ($p = 0.106$). En el cuadro VI se muestran los resultados de las medidas repetidas de las variables de función renal en ambos grupos. Al inicio del estudio 4 pacientes del grupo experimental presentaban una TFG menor a $90 \text{ ml/min/1.73m}^2$ mientras que en el grupo control 6 pacientes presentaban una TFG menor a 90 l/min/1.73m^2 , al finalizar la intervención se observó que los 4 pacientes del grupo experimental que presentaban una TFG menor a $90 \text{ ml/min/1.73m}^2$ presentaron un aumento de la misma, mientras que en el grupo control sólo 2 de los 6 pacientes que presentaban una TFG menor a $90 \text{ ml/min/1.73m}^2$ aumentaron sus valores, sin observarse significancia estadística.

Cuadro VI. Comparación de las variables de función renal en el grupo experimental y control con el modelo de medidas repetidas.

Variable	Basal		3 Meses		6 Meses		p
	Experimental $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Control $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Experimental $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Control $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Experimental $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Control $\bar{X} \pm \text{E.E.}$	
Urea (mg/dl)	28.44 ± 3.25	32.27 ± 3.02	28.84 ± 1.70	28.69 ± 1.57	29.68 ± 1.72	29.04 ± 1.60	0.65
Creatinina (mg/dl)	0.68 ± 0.02	0.73 ± 0.02	0.66 ± 0.02	0.71 ± 0.02	0.68 ± 0.02	0.73 ± 0.02	0.089
TFG (ml/min/m ²)	98.56 ± 2.00	96.78 ± 1.86	100.83 ± 2.20	98.95 ± 2.04	99.73 ± 2.05	96.98 ± 2.09	0.106

*Cifra estadísticamente significativa ($p < 0.05$), TFG: Tasa de filtración glomerular calculada con la fórmula CKD-EPI, $\bar{X} \pm \text{E.E.}$: Media \pm desviación estándar.

Las variables proteínas totales en orina, albumina en orina, creatinina en orina y relación albumina/creatinina sólo se midieron en el grupo experimental en 2 determinaciones (basal y a los 6 meses) por lo que se utilizó el modelo relacionado con la t-student para el análisis de estas variables, no logrando encontrar diferencias significativas, sin embargo, se observó una tendencia a la disminución de todas estas variables siendo más marcada en la albumina en orina, observando una determinación basal de 22.34 ± 12.01 y a los 6 meses de 13.81 ± 5.79 ($p = 0.48$); en el grupo control no se midieron estas variables. En el cuadro VII se muestran los resultados de las variables de función renal que se analizaron sólo en el grupo experimental.

Cuadro VII. Comparación basal y a los 6 meses de las variables de función renal en el grupo experimental.

Variable	Basal $\bar{X} \pm E.E.$	6 meses $\bar{X} \pm E.E.$	p
Proteínas totales en orina ($\mu\text{g/ml}$)	29.68 \pm 4.07	25.21 \pm 3.31	.167
Albumina en orina (mg/l)	22.34 \pm 12.01	13.81 \pm 5.79	.489
Creatinina en orina (mg/dl)	97.65 \pm 13.00	94.16 \pm 12.16	.733
Relación A/C (mg/g)	17.76 \pm 5.53	21.08 \pm 9.96	.712

*Cifra estadísticamente significativa ($p < 0.05$) t-student, Relación A/C: Relación albúmina/creatinina, $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar.

Respuesta inflamatoria y estrés oxidativo

Las variables de respuesta inflamatoria y estrés oxidativo sólo se analizaron en el grupo experimental, para lo que se utilizó el modelo relacionado de t, observando una disminución estadísticamente significativa en el TNF α comparando el momento basal 749.90 ± 102.50 y a los 6 meses 0.00 ($p=0.0001$). Se observó una tendencia a la disminución en la comparación de IL-6 basal 32.36 ± 6.68 y a los 6 meses 29.53 ± 10.74 ($p=0.83$), y una tendencia al aumento en la comparación de PAO basal 0.363 ± 0.02 y a los 6 meses 0.380 ± 0.02 ($p=0.55$), no se midieron estas variables en el grupo control. En el cuadro VIII se muestran los resultados del modelo relacionado de los marcadores de respuesta inflamatoria y estrés oxidativo en el grupo experimental.

Cuadro VIII. Comparación basal y a los 6 meses de los marcadores de respuesta inflamatoria y estrés oxidativo en el grupo experimental.

Variable	Basal $\bar{X} \pm E.E.$	6 meses $\bar{X} \pm E.E.$	p
IL-6 (pg/ml)	32.36 ± 6.68	29.53 ± 10.74	.831
TNFα (pg/ml)	749.90 ± 102.50	0.00	.000*
PAO ($\mu\text{mol de a.}$)	0.363 ± 0.02	0.380 ± 0.02	.559

*Cifra estadísticamente significativa ($p<0.05$) t-student, IL-6: Interleucina 6, TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa, PAO: Potencial antioxidante, $\bar{X} \pm E.E.$: Media \pm desviación estándar

Para disminuir sesgos en la interpretación de los resultados se realizó un análisis de los medicamentos con efecto a nivel renal, de respuesta inflamatoria y estrés oxidativo utilizados por los pacientes durante el periodo de estudio, no se observaron diferencias significativas inter ni intra grupos a lo largo del estudio. En el cuadro IX se muestran los resultados del análisis de medicamentos y dosis utilizados por los pacientes durante el periodo de estudio en ambos grupos.

Cuadro IX. Dosis de medicamentos utilizados por los pacientes de ambos grupos

Medicamento	EXPERIMENTAL				CONTROL			
	Basal n (%)	3 meses n (%)	6 meses n (%)	p	Basal n (%)	3 meses n (%)	6 meses n (%)	p
Metformina				NS				NS
425 mg	0	1 (4)	1 (4)		1 (3.4)	1 (3.4)	0	
850 mg	15 (60)	14 (56)	14 (56)		19 (65.5)	18 (62.1)	19 (65.5)	
1275 mg	2 (8)	2 (8)	2 (8)		2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)	
1700 mg	3 (12)	3 (12)	3 (12)		4 (13.8)	4 (13.8)	4 (13.8)	
2250 mg	5 (20)	5 (20)	5 (20)		3 (10.3)	4 (13.8)	4 (13.8)	
Enalapril				NS				NS
0 mg	20 (80)	21 (84)	21 (84)		23 (79.3)	23 (79.3)	23 (79.3)	
5 mg	1 (4)	1 (4)	1 (4)		0	0	0	
10 mg	2 (8)	1 (4)	1 (4)		1 (3.4)	1 (3.4)	1 (3.4)	
20 mg	1 (4)	1 (4)	1 (4)		2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)	
30 mg	0	0	0		1 (3.4)	1 (3.4)	1 (3.4)	
40 mg	1(4)	1 (4)	1 (4)		2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)	
Losartán				NS				NS
0 mg	22 (88)	22 (88)	22 (88)		27 (93.1)	27 (93.1)	27 (93.1)	
50 mg	1 (4)	1 (4)	1 (4)		0	0	0	
100 mg	2 (8)	2 (8)	2 (8)		2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)	
Pravastatina				NS				NS
0 mg	21 (84)	19 (76)	19 (76)		27 (93.1)	27 (93.1)	27 (93.1)	
10 mg	3 (12)	5 (20)	5 (20)		2 (6.9)	2 (6.9)	2 (6.9)	
20 mg	1 (4)	1 (4)	1 (4)		0	0	0	
Bezafibrato				NS				NS
0 mg	21 (84)	19 (76)	17 (68)		23 (79.3)	23 (79.3)	23 (79.3)	
200 mg	4 (16)	6 (24)	8 (32)		4 (13.8)	4 (13.8)	4 (13.8)	
400 mg	0	0	0		1 (3.4)	1 (3.4)	1 (3.4)	
600 mg	0	0	0		1 (3.4)	1 (3.4)	1 (3.4)	
Alopurinol				NS				NS
0 mg	23 (92)	23 (92)	23 (92)		28 (96.6)	28 (96.6)	28 (96.6)	
300 mg	2 (8)	2 (8)	2 (8)		1 (3.4)	1 (3.4)	1 (3.4)	

* Cifra estadísticamente significativa (p < 0.05)

DISCUSIÓN

En cuanto a las variables clínicas se encontró un hallazgo en nuestros resultados, observando que el peso y el IMC aumentaron de forma significativa a expensas de la masa magra en el grupo experimental. Aunque las vitaminas son fundamentales para la utilización de la energía derivada de los alimentos³⁶ no se ha reportado en la literatura que las vitaminas que se utilizaron provoquen aumento de la masa magra, sin embargo se deberá estudiar posteriormente sobre el efecto de estas vitaminas en la masa magra.

Control metabólico

En el control metabólico no se observaron diferencias significativas en cuanto a la glucosa, colesterol y triglicéridos se refiere, lo que concuerda con los estudios de Farvid y cols³⁷. Sin embargo en otros estudios como el de Paolisso en el que se dio suplementos de vitamina E a pacientes diabéticos tipo 2 observaron una disminución significativa en los niveles tanto de glucosa plasmática como de colesterol y triglicéridos tras el tratamiento con vitamina E³⁸, sin embargo en ese estudio se utilizó una dosis de 900 mg/día mientras que en el nuestro fue de 400 mg/día.

Control glucémico

En nuestros resultados se demostró que las vitaminas C, E y B6 disminuyeron significativamente los niveles de hemoglobina glucosilada en el grupo experimental, lo que concuerda con los estudios de Paolisso y Obregón^{38,39}, esto podría deberse al efecto que tiene la vitamina E al reducir la glicosilación proteica in vivo al interferir en las fases tempranas reversibles de la reacción de Maillard y en una fase más tardía en la auto oxidación de la glucosa. Así mismo al efecto de la vitamina C al ejercer su acción en fases tempranas y de una manera indirecta al ayudar a mantener la vida media de la vitamina E^{40,41}. De la misma forma en nuestro estudio se demostró que las vitaminas C, E y B6 disminuyeron los niveles de HbA1c% independientemente de los niveles de glucosa plasmática en el grupo experimental, esto se puede explicar por la variabilidad glucémica ya que se ha demostrado que hay muchos factores que contribuyen al desarrollo de dicha variabilidad como la hiperglucemia postprandial, el momento del día, el estado de salud y el grado de estrés⁴².

Por otra parte, el impacto de estos factores puede variar de un día a otro y de persona a persona, por lo que la determinación de HbA1c% es un mejor predictor del control glucémico ya que es un reflejo de la glucosa sanguínea tanto en ayuno como postprandial durante sesenta a noventa días⁴³. Estos resultados se deben interpretar con precaución ya que aunque se demostró una disminución significativa en las cifras de HbA1c%, ésta sólo se analizó en el grupo experimental, por lo que se deben realizar estudios que incluyan un grupo control para corroborar éste efecto en la disminución de HbA1c% y mejor control glucémico de éstas vitaminas.

Función renal

En los resultados de este trabajo no se logró demostrar una diferencia estadísticamente significativa en los marcadores de función renal con el uso de piridoxina, vitamina C y vitamina E sin embargo se observó una marcada disminución de los niveles de albuminuria, Farvid y cols. en su trabajo demuestran una disminución significativa en los niveles de microalbuminuria con el uso de estas mismas vitaminas³⁷, cabe mencionar que en su trabajo los pacientes al inicio presentaban niveles de albumina urinaria en rangos de microalbuminuria, no así en este trabajo en el que la media de albumina urinaria estaba en niveles normales desde el inicio. La tasa de filtración glomerular no sufrió cambios significativos posterior a la intervención, sin embargo, 4 pacientes del grupo experimental que se encontraban en estadio 2 de la clasificación de K/DOQUI/KDIGO¹² antes de la intervención, lograron aumentar su TFG a valores normales, esto es consistente con lo encontrado en el trabajo de Bursell y cols. en el que observaron una mejora significativa en TFG tras el tratamiento con vitamina E⁴⁴, lo que sugiere que el tratamiento con estas vitaminas pudiera tener un efecto benéfico para mejorar y retardar el progreso de la enfermedad renal asociada a la diabetes. Como se describe anteriormente en nuestro trabajo aunque si se observó una mejora en la función renal, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, esto podría estar influido por el tamaño de la muestra y por el tiempo de seguimiento ya que como es sabido los cambios en la función renal requieren de un tiempo más prolongado para que sean perceptibles, por lo que en el futuro se deberán realizar trabajos con un número mayor de pacientes y con un periodo de seguimiento más prolongado.

Respuesta inflamatoria

Existe poca evidencia en cuanto al empleo de vitaminas para disminuir la respuesta inflamatoria en enfermedades con un trasfondo inflamatorio crónico como la diabetes, nuestro estudio es uno de los primeros estudios que evalúan este aspecto.

En nuestro estudio se demostró que el empleo de vitaminas E, C y B6 disminuye en forma muy significativa los valores de TNF alfa tras el tratamiento, lo que concuerda con lo encontrado por Huang y cols en su estudio sobre el empleo de vitamina B6 en artritis reumatoide en el que lograron una disminución significativa de los marcadores de respuesta inflamatoria TNF alfa e IL6⁴⁹. Cabe mencionar que en el análisis de TNF alfa el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y su análisis fue mayor a 6 meses y al contrastar los resultados tan notorios que se observaron en esta variable al observar una determinación de 0 en todos los pacientes del grupo experimental tras el tratamiento y, ya que no se conto con un grupo control, este resultado se debe interpretar con mucha cautela.

Estrés oxidativo

En los resultados de este trabajo se observó un discreto aumento de los valores del potencial antioxidante (PAO) con el uso de vitamina C, E y B6 no siendo significativo, aunque se conocen los efectos de la vitamina E para prevenir la peroxidación lipídica⁴⁵, así como el papel de la vitamina C en la inhibición de la formación de radicales superóxido⁴⁶, no se ha logrado demostrar en los estudios clínicos una disminución en el estrés oxidativo con estas vitaminas^{47, 48}, lo que concuerda con los resultados de nuestro estudio.

CONCLUSIONES

El uso de vitamina E, vitamina C y piridoxina asociadas a metformina en el paciente diabético disminuyó en forma significativa las cifras de HbA1c% en el grupo experimental.

El uso de vitamina E, vitamina C y piridoxina asociadas a metformina en el paciente diabético no tuvo ningún efecto en las variables de control metabólico, función renal y estrés oxidativo.

El uso de vitamina E, vitamina C y piridoxina asociadas a metformina en el paciente diabético demostró disminuir en forma significativa las cifras de TNF alfa en el grupo experimental.

Con este trabajo se puede concluir que el uso de vitamina E, vitamina C y piridoxina asociadas a metformina en el paciente diabético disminuye en forma significativa la HbA1c% y el TNF alfa lo que sugiere que mejora el control glucémico y disminuye la respuesta inflamatoria por lo que indirectamente podría retardar la aparición de la enfermedad renal asociada a la diabetes, sin embargo los resultados no son concluyentes ya que las variables en las que se observó una diferencia estadísticamente significativa no se pudieron analizar en el grupo control.

SUGERENCIAS

1. Agregar al tratamiento establecido a los pacientes con diabetes tipo 2 las vitaminas E, C y piridoxina a las dosis utilizadas en este estudio.
2. Realizar un estudio a largo plazo para evaluar el efecto nefroprotector de éstos antioxidantes.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Podemos mencionar como limitaciones, el tamaño pequeño de la muestra, el tipo de muestreo, ya que se hizo por conveniencia y aunque se tuvo un grupo experimental y un grupo control no se pudieron realizar todas las determinaciones en los estudios de laboratorio programadas en el grupo control por falta de presupuesto. Otra limitación fue el desfase de tiempo que ocurrió al analizar las muestras para la determinación de TNF alfa.

REFERENCIAS

1. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World A Growing Challenge. *N ENGL J MED*. 2007;3(356):213-215.
2. Olmos P, Araya A, González C, Lasoa P, Iribarra V, Rubiob L. Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas. *Rev Méd Chile*. 2009;137:1375-1384.
3. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R. Global Prevalence of Diabetes Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004;27(5):1047-1053.
4. Villalpando S, Rojas R, Shamah T, Ávila MA, Gaona B, De la Cruz V, et al. Prevalence and distribution of type 2 Diabetes mellitus in Mexican adult population. A probabilistic survey. *Salud Publica Mex*. 2010;52(1):S19-S26.
5. Gaede P, Lund H, Parving HH, Pedersen O. Effect of a Multifactorial Intervention on Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2008;358:580-591.
6. Hayashi H, Karasawa R, Inn H, Saitou T, Ueno M, Nishi S, et al. An electron microscopic study of glomeruli in Japanese patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1992;41:749-757.
7. Torres A, Zacarías R. Nefropatía diabética. *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González*. 2002;5(1-2):24-32.
8. García G, Monteon JF, Garcia H, Gomez B, Hernandez I, Lomeli NM, et al. Renal replacement therapy among disadvantaged populations in Mexico: A report from the Jalisco Dialysis and Transplant Registry (REDTJAL). *Kidney International*. 2005;68:1523-1755.
9. Cueto Manzano A M, Cortes L, Martinez HR, Rojas E, Barragan G, Alfaro G, et al. Detection of early nephropathy in Mexican patients with type 2 diabetes mellitus. *Kidney International*. 2005;68:1523-1755.

10. Rosales RC, López JJ, Núñez NY, González AE, Ramírez SA. Nefropatía por diabetes mellitus tipo 2: un rasgo multifactorial con umbral y su mapa mórbido cromosómico. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2010;48;5:521-530.
11. American Diabetes Association. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27:79-83.
12. Rosa G, Varela F, Crucelegui S, Algranati S, Greloni G. Comparación entre las ecuaciones CKD-EPI y MDRD para la estimación del filtrado glomerular en pacientes con enfermedad renal crónica. *MEDICINA.* 2011;71: 323-330.
13. Levey AS, Stevens LA, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150:604-612.
14. Levey AS, Stevens EA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. Definición y clasificación de la enfermedad renal crónica: Propuesta de KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes). *Kidney International (Edición español).* 2005;1:135-146.
15. Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney: from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure. *Med Clin North Am.* 1988 Nov;72(6):1465-92.
16. Marrón B, Ortiz A, Egido J. Factores patogénicos en la nefropatía diabética. ¿De dónde venimos y hacia dónde vamos?. *NEFROLOGÍA.* 2001;21(3):18-23.
17. Ramana KV, Friedrich B, Tammali R, West MB, Bhatnagar A, Srivastava SK. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells. *Diabetes.* 2005;54:818-829.
18. Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabet Med.* 2001;18:945-959.

19. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care*. 2006;29:1420-1432.
20. Tan AL, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol*. 2007;27:130-143.
21. Shimoike T, Inoguchi T, Umeda F, Nawata H, Kawano K, Ochi H. The meaning of serum levels of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy. *Metabolism*. 2000;49:1030-1035.
22. Hernández JC, Licea ME, Hernández P, Abraham EA, Yanes M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin*. 2011;58(1):4-15.
23. Roberts CK, Vaziri ND, Barnard RJ. Effect of diet and exercise intervention on blood pressure, insulin, oxidative stress, and nitric oxide availability. *Circulation*. 2002;106:2530-2532.
24. Agarwal R. Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;284:863-869.
25. Navarro J, Mora C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:433-442.
26. Navarro J. Nefropatía diabética: ¿Una cuestión de inflamación? Hipótesis del daño renal inflamatorio en la diabetes mellitus tipo 2. *Nefrología* 2003;23:381-389.
27. Navarro JF, Milena FJ, Mora C, Leon C, Claverie F, Flores C, et al. Tumor necrosis factor alpha gene expression in diabetic nephropathy: Relationship with urinary albumin excretion and effect of angiotensin converting enzyme inhibition. *Kidney Int*. 2005;68(99):98-102.

28. Dipetrillo K, Coutermarsh B, Gesek FA. Urinary tumor necrosis factor contributes to sodium retention and renal hypertrophy during diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;284:f113-121.
29. Navarro JF, Mora C, Muros M, García J. Urinary tumor necrosis factor- α is independently associated with clinical markers of renal injury in diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:3428-3434.
30. Morris MS, Picciano MF, Jacques PF, Selhub J. Plasma pyridoxal 5 -phosphate in the US population: the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2004. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1446-54.
31. Friso S, Girelli D, Martinelli N, Olivieri O, Lotto V, Bozzini C, et al. Low plasma vitamin B-6 concentrations and modulation of coronary artery disease risk. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:992-8.
32. Friso S, Jacques PF, Wilson PW, Rosenberg IH, Selhub J. Low circulating vitamin B(6) is associated with elevation of the inflammation marker C-reactive protein independently of plasma homocysteine levels. *Circulation*. 2001;103:2788-91.
33. Okada M, Shibuya M, Yamamoto E, Murakami Y. Effect of diabetes on vitamin B6 requirement in experimental animals. *Diabetes Obes Metab*. 1999;1:221-5.
34. Shen J, Lai C, Mattei J, Ordovas JM, and Tucker KL. Association of vitamin B-6 status with inflammation, oxidative stress, and chronic inflammatory conditions: the Boston Puerto Rican Health Study. *M J Clin Nutr*. 2010;91:337-42.
35. Jain SK. Vitamin B6 (pyridoxamine) supplementation and complications of diabetes. *Metabolism*. 2007;56:168-71.

36. Russell RM. Deficiencias y excesos de vitaminas y oligoelementos. En Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editores. HARRISON PRINCIPIOS DE Medicina Interna 16^a edición. México: Mc Graw Hill; 2005. p. 452-464.
37. Farvid MS, Siassi F, Jalali M, Hosseni M. Comparison of the Effects of Vitamins and/or Mineral Supplementation on Glomerular and Tubular Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2458-2464.
38. Paolisso G, D'amore A, Galzerano D, Balbi V, Giugliano D, Aricchio M, et al. Daily Vitamin E Supplements Improve Metabolic Control But Not Insulin Secretion in Elderly Type II Diabetic Patients. *Diabetes Care*. 1993;16:1433-1437.
39. Obregón O, Vecchionacce H, Brito S, LaresM, CastroJ, Ramírez X, et al. Efecto antiglicosilante de las vitaminas E y C. *AVFT*. 2005;24(1):74-77.
40. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre P. Vitamin E Reduction of Protein Glycosylation in Diabetes New Prospect for Prevention of Diabetic Complications?. *Diabetes Care*. 1991;14:68-72.
41. Dave SJ, Gould BJ, and Yudkin JS. Effect of Vitamin C on Glycosylation of Proteins. *Diabetes*. 1992;41:167-73.
42. Ampudia F.J. Hiperglucemia posprandial y variabilidad glucémica: nuevos objetivos de control en la diabetes. *Av Diabetol*. 2010;26(1):29-34.
43. Kuenen JC, Borg R, Kuik DJ, Zheng H, Schoenfeld D, Diamant M, et al. Does Glucose Variability Influence the Relationship Between Mean Plasma Glucose and HbA1c Levels in Type 1 and Type 2 Diabetic Patients?. *Diabetes Care*. 2011 34:1843-1847.

44. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, Aiello LM, Schlossman DK, Feener EP, et al. High-Dose Vitamin E Supplementation Normalizes Retinal Blood Flow and Creatinine Clearance in Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22:1245-1251.
45. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*. 1995;62:1315-1321.
46. Mayes PA. Estructura y función de vitaminas hidrosolubles. En: *Bioquímica de Harper*. Murray RK, Mayes PA, Granner DK editores. México DF:El Manual Moderno, S. A.; 1997. p.719-20.
47. Golbidi S, Ebadi SA, Laher I. Antioxidants in the Treatment of Diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2011;7(2):106-125.
48. Yusuf S, et al. Effects of Long-term Vitamin E Supplementation on Cardiovascular Events and Cancer A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2005;293:1338-1347.
49. Huang SC, Wei JC, Wu DJ, Huang YC. Vitamin B6 supplementation improves pro-inflammatory responses in patients with rheumatoid arthritis. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2010;64:1007-1013.

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

MORELIA, MICH. A _____ de _____ del _____

Por medio de la presente

yo _____ acepto participar en el proyecto de investigación titulado **EFFECTO DE PIRIDOXINA, VITAMINA C, Y VITAMINA E EN LOS MARCADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA, ESTRÉS OXIDATIVO Y FUNCIÓN RENAL EN EL PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2 TRATADO CON METFORMINA**

He sido informado de los riesgos derivados de los procedimientos de obtención de muestras de sangre, que conforman un estudio de investigación clínica, el cual solo puede realizarse con el consentimiento voluntario de los participantes en el mismo.

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que se presenta muy frecuentemente en personas obesas y con antecedentes de algún familiar con ese padecimiento. Se caracteriza por azúcar alta en la sangre y si no se controla adecuadamente, después de algunos años aparecen complicaciones como ceguera y daño a los riñones, entre otros problemas. Hasta la fecha no se tiene un tratamiento para curar esta enfermedad y solo se trata de controlar el azúcar en la sangre para disminuir el riesgo de las complicaciones mencionadas. En el manejo del paciente diabético esta el hacer estudios de sangre y orina para medir sustancias especiales y ver el grado de daño que se está produciendo en el cuerpo.

El objetivo de este estudio es determinar si los medicamentos adyuvantes como la piridoxina, la vitamina C y la vitamina E disminuye el daño a nivel renal en el paciente con diabetes tipo 2.

Se me ha explicado que el estudio se hará en personas con diabetes mellitus y que mi participación consistirá en proporcionar datos sobre mi enfermedad y en una exploración física general para hacer una Historia clínica.

Permitiré que se me realicen estudios de laboratorio a través de una toma de 20 ml de sangre venosa y una muestra de orina al inicio del estudio a los 3 y a los 6 meses, con los resultados se verá el estado general de salud que tengo en ese momento.

Los beneficios que puedo obtener al participar en esta investigación serán que a través de estudios especiales de laboratorio se podrá conocer la función de mis riñones al momento del inicio del estudio y si se frena este daño con el adyuvante que me están proporcionando.

Se me informó que este proyecto se considera de riesgo menor mínimo, que los riesgos son principalmente por la extracción de sangre como dolor en el sitio de punción venosa y/o hematomas (moretones). Se me ha hecho saber los posibles efectos secundarios de la ingesta de metformina, la piridoxina, la vitamina C y la vitamina E además del inconveniente de acudir a las 7:00 de la mañana en ayuno para mis análisis con ligeras incomodidades que esto me ocasione.

Mi nombre y datos personales de la investigación serán confidenciales. Los resultados de laboratorio se me comunicaran una vez obtenidos y podrán ser compartidos con mi medico tratante si así lo autorizo.

La información científica derivada de los resultados obtenidos de este estudio puede ser publicada, con la obligación de mantener mi identificación en secreto.

“La decisión para participar en este estudio es absolutamente voluntaria, es decir, soy libre de elegir si participo o no en el estudio. NO habrá ningún menoscabo o perdida de mis beneficios asistenciales en el IMSS si no decido participar”

“Antes de tomar mi decisión, la persona a cargo de la investigación me dará la oportunidad de realizar cualquier pregunta que tenga respecto al estudio. NO firmare este consentimiento a menos que reciba respuestas satisfactorias a mis inquietudes respecto al proyecto”.

“El confirmar mi participación voluntaria en este estudio, no me obliga a mantenerme en él y en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento y retirarme del mismo, pero informare los motivos de mi decisión al investigador titular del proyecto, quien me dará indicaciones, así como las medidas a seguir para mi seguridad y la recolección de la información pertinente”

Al firmar este consentimiento estoy de acuerdo que:

1. Leí o me leyeron en su totalidad y me explicaron en mi idioma natal esta forma de consentimiento informado en que se describe el proyecto de investigación a realizar.
2. Tuve la oportunidad de preguntar al investigador y sus ayudantes todas las dudas relacionadas con el estudio y que he recibido respuestas que considero satisfactorias a mis dudas y cuestionamientos.
3. Tengo en mi poder una copia firmada de este consentimiento.
4. No estoy participando en este momento en ningún otro proyecto de investigación.
5. Entiendo perfectamente los objetivos del estudio, los procedimientos y maniobras a que seré sometido así como los riesgos y beneficios, por tal motivo doy libremente mi consentimiento para participar en el proyecto que se contiene en esta forma bajo las condiciones que se indican.
6. Entiendo que puedo rehusarme a continuar en el estudio o retirarme de la investigación en cualquier momento, sin detrimento de mi seguridad clínica.

Nombre y firma del paciente.

Investigador

Responsable: _____

Números telefónicos al cual puede comunicarse en caso de emergencia, dudas ó preguntas relacionadas con el estudio:

Testigo

Testigo

ANEXO 2

EFFECTO DE PIRIDOXINA, VITAMINA C, Y VITAMINA E EN LOS MARCADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA, ESTRÉS OXIDATIVO Y FUNCIÓN RENAL EN EL PACIENTE CON DIABÉTICO TIPO 2 TRATADO CON METFORMINA

FORMATO DE REPORTE DE CASO
IDENTIFICACIÓN

CÓDIGO DEL PACIENTE: _____

INICIALES DEL PACIENTE: _____

NO. DE SEGURIDAD SOCIAL: _____

UMF NO. 80 CONSULTORIO: _____ TURNO: _____

EDAD: _____ GENERO: _____

FECHA DE DIAGNOSTICO DE DIABETES TIPO 2: _____

TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE DIABETES TIPO 2: _____

FECHA DE INGRESO AL ESTUDIO: _____

GLUCOSA BASAL EN AYUNO: _____

TRATAMIENTO ACTUAL: _____

INVESTIGADOR RESPONSABLE: _____

INVESTIGADOR ASOCIADO: _____

ANEXO 3

HISTORIA CLÍNICA

1. Ficha de Identificación

Nombre _____ Edad _____ Sexo _____
Nacionalidad _____ Edo. Civil _____ Ocupación _____
Lugar de origen _____ Lugar de residencia _____
Domicilio _____ Religión _____ Escolaridad _____
No. De seguro social _____ Consultorio _____ Turno _____
Tel. domiciliario _____ Tel Cel _____ Tel Familiar _____

2. Antecedentes Heredofamiliares

Diabetes Mellitus
Tuberculosis
Cáncer
Cardiopatías
Hepatopatías
Nefropatías
Enf. Endocrinas
Enf. Mentales
Enf. Hematológicas
Epilepsia
Asma
Sífilis

NOTA: Investigar etiología y edades de morbimortalidad en abuelos, padres, hijos, conyugues y hermanos.

3. Antecedentes personales patológicos

Enf. Infecciosas de la infancia
Tb, Enf venéreas, fiebre tifoidea, salmonelosis, neumonías,
Paludismo, parasitosis, enf. Alérgicas, pad. Articulares.
Intervenciones quirúrgicas
Hospitalizaciones
Traumatismos
Intolerancia a medicamentos, alergias
Transfusiones

4. Antecedentes personales no patológicos

Hábitos personales: Baño _____ defecación _____ Lav. Dientes _____
Habitación (cuartos, piso, techo, ventanas, servicios): _____
Tabaquismo (cig/día/años/) _____ Alcoholismo (beb/frec) _____
Toxicomanías (esp/día/años) _____ Aliment. (f/tipo) _____ res _____ pollo _____ fruta _____
Deportes (act física tipo/frec) _____ Inmunizaciones _____
Trabajo días/sem _____ Pasatiempos _____

5. Antecedentes ginecoobstétricos

Menarca _____ Desarrollo sexual _____ Ritmo menstrual (f/d/c) _____
 Partos _____ Cesáreas _____ Abortos _____ FUP _____ FUC _____ Parejas _____
 FUM _____ FPR _____ Vida sexual _____ FPP _____
 Método anticonceptivo _____

6. Interrogatorio por aparatos y sistemas

Aparato digestivo: Halitosis, boca seca, odinofagia, disfagia, pirosis, náuseas, vómito, hematemesis, dolor abdominal, meteorismo, flatulencias, constipación, diarrea, rectorragia, melena, pujo, tenesmo, ictericia, coluria, acolia, prurito cutáneo.	
Aparato cardiovascular: Disnea, tos, hemoptisis, dolor precordial, palpitaciones, cianosis, edema, acufenos fosfenos, síncope, lipotimia, cefalea.	
Aparato respiratorio: Tos, disnea, dolor torácico, hemoptisis, cianosis, vómica, alteraciones de la voz.	
Aparato urinario: Alteraciones de la micción (poliuria, anuria, polaquiuria, oliguria, nicturia, disuria, tenesmo vesical, urgencia, chorro, enuresis, incontinencia, dolor lumbar, edema, hipertensión arterial, anemia.	
Aparato genital: Criptorquidia, fimosis, función sexual, sangrado genital, flujo o leucorrea, dolor ginecológico, prurito vulvar.	
Aparato hematológico: Anemia, palidez, astenia, adinamia, hemorragias, adenopatías, esplenomegalia, petequias, hematomas.	
Sistema endocrino: Bocio, letargo, bradipsiquia, bradilalia, intolerancia al calor o al frío, nerviosismo, hiperquinesis, caracteres sexuales, galactorrea, amenorrea, ginecomastia, obesidad, ruborización.	
Sistema osteomuscular: Ganglios, xeroftalmia, xerostomía, fotosensibilidad, artralgias, mialgias, Raynaud.	
Sistema nervioso: Cefalea, síncope, convulsiones, déficit transitorio, vértigo, confusión, obnubilación, vigilia/sueño, parálisis, marcha, equilibrio, sensibilidad.	
Sistema sensorial: Visión, agudeza, diplopía, fosfenos, dolor ocular, fotofobia, xeroftalmia, amaurosis, otalgia, otorrea, hipoacusia, tinitus, olfacción, epistaxis, secreción, fonación.	
Psicosomático: Personalidad, ansiedad, depresión, afectividad, emotividad, amnesia, voluntad, pensamiento, atención, ideación sucida, delirios.	

7. Exploración física

1. Somatometría y signos vitales:

Peso: _____

FC: _____

Talla: _____

PAS: _____

IMC: _____

PAD: _____

Masa grasa %: _____

FR: _____

Masa grasa kg: _____

Temp: _____

Agua total: _____

2. Exploración general:

3. Exploración regional (inspección, palpación, percusión, auscultación):

Cabeza	
Cuello	
Tórax	

Abdomen	
Extremidades	
Genitales	
Otros	

4. Exámenes de laboratorio (anexados al final)

5. Estudios de gabinete (anexados al final)

Comentario	
Diagnóstico	
Pronóstico	
Tratamiento	

Elaboró (nombre y firma) _____