



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



**RENALASA SÉRICA Y ALFA AMILASA SALIVAL EN PACIENTES CON DIABETES
MELLITUS TIPO 2**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

QUE PRESENTA:

Libertad Escudero Hernández.
Especialista en Medicina Familiar

Directores de tesis:

Guadalupe Partida Hernández
Doctora en Ciencias Biológicas
(UMSNH)

Cleto Álvarez Aguilar
Maestro en Ciencias Médicas
(IMSS)

Morelia, Mich.
México
2015



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"



El jurado designado por la División de Estudios de Posgrado en esta Dependencia de la UMSNH, aprobó la tesis que presentó:

Libertad Escudero Hernández

Médico especialista en Medicina Familiar

Para obtener el grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Víctor Manuel Farías Rodríguez
Maestro en Ciencias Médicas

José Luis Martínez Toledo
Maestro en Salud Pública

Jesús Antonio Alveano Hernández
Doctor en Ciencias



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"



Los asesores de tesis han revisado el contenido de este documento y firman de conformidad en relación al trabajo de la sustentante:

Libertad Escudero Hernández

Médico especialista en Medicina Familiar

Para obtener el grado de:
MAESTRA EN CIENCIAS DE A SALUD

D en C Biol. Guadalupe Partida Hernández
Asesora de tesis (UMSHN)

M en C M Cleto Álvarez Aguilar
Asesor de tesis (IMSS)

Colaboradores:

Doctora en Farmacología Clínica

Anel Gómez García

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI), IMSS

Matemático, Analista Coordinador "A"

Carlos Gómez Alonso

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI), IMSS

Maestra en Farmacología básica

María Lucía Enríquez Ramírez

Hospital General de Zona No. 83, IMSS

La presente investigación se realizó en:

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas

“Dr. Ignacio Chávez”

División de Estudios de Posgrado

Laboratorio de Diabetes Clínica y Experimental

Instituto Mexicano del Seguro Social

Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI), Morelia, Mich.

Módulo de DiabeTIMSS de la Unidad de Medicina Familiar # 75, Morelia, Mich.

Hospital General de zona No. 83, Morelia, Mich.

Hospital General Regional No. 1, Charo, Mich.

Unidad Médica de Atención Ambulatoria UMAA, Morelia, Mich.

La Maestría en Ciencias de la Salud de la
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del
CONACYT

La estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
“Dr. Ignacio Chávez”
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Recibió beca del CONACYT
durante la realización de su tesis de Maestría en Ciencias de la Salud
Registro de becaria: 291058

AGRADECIMIENTOS:

Al Instituto Mexicano del Seguro Social, la Institución con mayor presencia en la atención a la salud y en la protección social de los mexicanos desde su fundación en 1943. Por permitirme crecer para beneficio personal y de mis pacientes.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por promover y estimular el desarrollo de la ciencia y la tecnología en México. Por la beca otorgada.

A mis profesores de Maestría, investigadores y asesores todos, por su dedicación, paciencia y asesoría; por sus aportaciones, comentarios y observaciones a este trabajo de tesis; gracias a ustedes vi el mundo de la Medicina como infinito.

A mis compañeros; este grupo heterogéneo de personalidades, profesiones y sensibilidades me permitió crecer y complementarme. Gracias por su sabiduría.

Al excelente personal de la División de Estudios de Posgrado por el abrigo y el cariño durante nuestra estancia.

A la Doctora en Ciencias Martha Eva Viveros Sandoval, por el apoyo recibido, por sus sabios consejos, por su instrucción y guía. Estaré eternamente agradecida.

A la Doctora en Farmacología Clínica, Anel Gómez García por el enfoque crítico y meramente científico plasmado en este trabajo.

A mi profesor, Carlos Gómez Alonso, analista, matemático, por el apoyo y el diseño profesional en bioestadística, por su asesoría para que destacara en mis presentaciones.

A la Maestra en Farmacología básica, María Lucía Enríquez Ramírez, que nunca se estresa, que siempre está contenta y que predica con el ejemplo; así como al equipo del Hospital General de Zona No. 83, los mejores químicos del IMSS. Sin ustedes mi trabajo no se hubiera realizado.

Al Doctor en Ciencias, Sergio Gutiérrez por el apoyo infinito e incondicional, por su tiempo y disposición; al grupo de químicos del Hospital General Regional No.1, IMSS, bajo su dirección que fueron parte indispensable en este proyecto.

A los especialistas en nefrología Francisco Belío Caro y Antonio Salinas González de la Unidad Médica de Atención Ambulatoria UMAA, por su apoyo e interés en el trabajo.

A las especialistas en Medicina Familiar, África Jazmín Sánchez Valenzuela y Augusta Delia Hernández Villegas, responsables del programa de DiabetIMSS; a la Trabajadora Social Agustina Gutiérrez Gutiérrez y a la Lic. en Enfermería María del Consuelo Espinoza Caltzontzin, de la Unidad de Medicina Familiar No. 75, IMSS, Morelia, Mich. por su disposición para la incorporación de participantes en este trabajo.

A mis sinodales, Maestro en Ciencias Víctor Manuel Farías Rodríguez, Maestro en Salud Pública José Luis Martínez Toledo y al Doctor en Ciencias Jesús Antonio Alveano Hernández por sus críticas, reflexiones y sobre todo aportaciones a este trabajo de tesis.

A la Doctora en Ciencias Biológicas Guadalupe Partida Hernández por la asesoría dentro de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y su apoyo para la aprobación del trabajo en esta Institución.

Al Maestro en Ciencias Médicas Cleto Álvarez Aguilar, por diseñar y poner en mis manos un tema trascendental y novedoso y creer que podría desarrollarlo; por su asesoría por parte del Instituto Mexicano del Seguro Social, por defender este trabajo, por su tiempo y dedicación.

DEDICATORIA:

A mis padres; ella, con su determinación, de carácter fuerte y decidido que me enseñó que el tiempo es frágil y que no existen límites; él, quien me educó con la sabia consigna de aprender sólo por el placer de hacerlo.

A mis hijas Andrea y Tania por el apoyo incondicional, por el soporte técnico en la realización de este manuscrito y las diapositivas, por el tiempo que les robé, por aquellos momentos que me perdí... porque son mi ejemplo a seguir.

A ti, Martín, mi compañero de vida, gracias por ser un papá de múltiples facetas, por compartir responsabilidades, por ser chofer, cocinero, niño, enfermero, tutor, maestro; por el soporte técnico y el hombro para llorar, por el abrazo protector.

A mi hermano Pável, mi maestro, compañero de juegos, siempre te he admirado y he querido seguir tus pasos, admiro tu sabiduría y tu noble corazón.

A Susana Karina, mi amiga, lectora incansable, de intelecto descollante, de sencillez cegadora.

A todos los maestros que he tenido en la vida; a los que admiro y de los que he intentado seguir sus pasos y sobre todo a aquellos que con su ejemplo me han mostrado el tipo de persona que nunca quiero ser.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 1602
H GRAL REGIONAL NUM 1, MICHOACÁN

FECHA 22/03/2013

DR. CLETO ALVAREZ AGUILAR

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Papel de la renalasa en los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes mellitus tipo 2

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2013-1602-7

ATENTAMENTE

DR.(A). MARIO ALBERTO MARTINEZ LEMUS
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 1602

IMSS

SECRETARÍA Y SUBCOMITÉO NACIONAL

Informe de modificación al protocolo de investigación o sus anexos

México, D.F. 12 de Abril de 2013

El que suscribe CLETO ALVAREZ AGUILAR
(Nombre del Investigador responsable)

En calidad de INVESTIGADOR RESPONSABLE del protocolo de investigación titulado:

PAPEL DE LA RENALASA EN LOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE LA DIABETES MELLITUS

Con Numero de Registro IMSS R-2013-1602-7

Con fecha 26/03/2013

Que se está realizando en UMF No. 75
(Nombre de la Unidad de Atención Médica)

Hago constar que he revisado el contenido de la(s) modificación(es) que se describe(n) a continuación:

- Cambio del título del protocolo a Hiperactividad del sistema nervioso simpático en los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes mellitus tipo 2: Papel de la renalasa.
- Se incrementó un párrafo en la sección de renalasa del apartado de Antecedentes con sus respectivas referencias bibliográficas.

Y certifico que éstas se apegan a las guías de buenas prácticas clínicas y no afectan en lo sustancial el protocolo que fue autorizado por la Comisión Local de Investigación Científica.

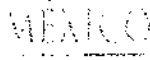
Atentamente



Dr. Cleto Alvarez Aguilar
Mat 3320405

(Nombre, Firma y Matricula del Investigador
Responsable)

Clave 2810-009-017



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



"2013, Año de la Lealtad Institucional y Centenario del Ejército Mexicano"

Dictamen de Modificación Autorizada

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA EN INVESTIGACIÓN EN SALUD 1602
H. GRAL REGIONAL NUM 1, MICHOACÁN

FECHA 28/05/2013

DR. CLETO ALVAREZ AGUILAR

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que la modificación al protocolo de investigación en salud con número de registro **R-2013-1602-7** y con título: **Papel de la renalasa en los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes mellitus tipo 2** que consiste en:

Cambio de título
Cambio metodológico

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **MODIFICACION AUTORIZADA.**

ATENTAMENTE

DR. (A). MARIO ALBERTO MARTÍNEZ LEMUS
PRESIDENTE DEL COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA EN INVESTIGACIÓN EN SALUD No.1602

IMSS

SISTEMA DE SEGURIDAD SOCIAL



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
"Dr. Ignacio Chávez"

SECRETARÍA ACADÉMICA

Morelia, Mich., 10 de Junio de 2014.

C. ESP. EN MED. FAM.
LIBERTAD ESCUDERO HERNÁNDEZ
PRESENTE

A S U N T O: INFORMACIÓN

En relación a su solicitud de evaluación y dictamen del Proyecto de Investigación titulado "RENALASA SÉRICA Y ALFA AMILASA SALIVAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2", tengo a bien informar a Usted que la Comisión de BIOÉTICA ha resuelto **APROBARLO**.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

DR. ARTURO VALENCIA ORTIZ
SECRETARIO ACADÉMICO



FACULTAD DE CIENCIAS
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
SECRETARÍA
ACADÉMICA

c.e.p. ASESOR DE TESIS.
c.e.p. COMITÉ DE TITULACIÓN POR TESIS.
c.e.p. Archivo de la Secretaría Académica.
DR.AVO/sgg*



Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas
"Dr. Ignacio Chávez"

OFICIO N°: 000092
A S U N T O: INFORMACIÓN

Morelia, Mich., 22 de Septiembre de 2014.

**C. DRA. LIBERTAD ESCUDERO HERNÁNDEZ
P R E S E N T E**

AT'N: DRA. EN C.B. GUADALUPE PARTIDA HERNÁNDEZ
PROFESORA INVESTIGADORA DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"

Le notifico que el protocolo de investigación que Usted presentó ante esta Secretaría Académica a mi cargo, y cuyo título es:

"Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2"

Fue sometido a la evaluación del Comité de Investigación de esta Dependencia Universitaria, quienes de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética médica y de investigación vigentes, por lo que el protocolo fue **AUTORIZADO**, habiéndose asignado el número de registro de la dependencia siguiente:

	ÁREA	Nº DE REGISTRO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"	POSGRADO	002/P/8/2014

Se le solicita informar del grado de avance del mismo acorde al cronograma de actividades así como el título de la revista, volumen, año y páginas una vez que el mismo sea publicado. En caso de que el mismo contemple la graduación de un alumno indicar fecha y grado académico obtenido.

Atentamente:


DR. ARTURO VALENCIA ORTIZ
SECRETARIO ACADÉMICO



c.c.p. Coordinador de la Investigación Científica UMSNH
c.c.p. Archivo y Correspondencia de la Facultad.
c.c.p. Archivo de la Secretaría Académica.
DR.AVO/sgg*



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"**



En la Ciudad de Morelia, capital del Estado de Michoacán de Ocampo siendo las 9:00 h del día **15** de junio del 2015 se reunieron en la División de Estudios de Posgrado, los Profesores:

- Presidente: Maestro en Ciencias Médicas Víctor Manuel Farías Rodríguez
- Vocal 1: Maestro en Investigación en Salud Pública José Luis Martínez Toledo
- Vocal 2: Doctor en Ciencias Jesús Antonio Alveano Hernández
- Directora de tesis UMSNH: D en C Biol Guadalupe Partida Hernández
- Director de tesis IMSS: M en C Cleto Álvarez Aguilar

Miembros del Comité Tutorial designado para evaluar el avance del Proyecto de Tesis con título:
"Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2"

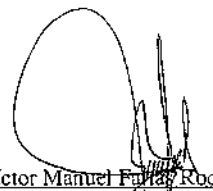
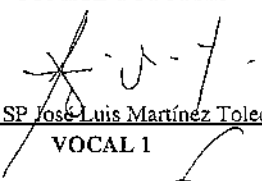
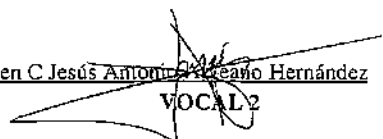
presentado por el alumno(a) Libertad Escudero Hernández
del área terminal Clinico-Epidemiológica


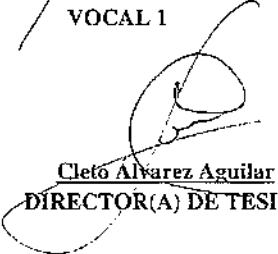
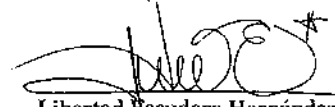
El Comité procedió a realizar la evaluación correspondiente al sustentante, quien hizo una presentación de los resultados de su trabajo de tesis y en seguida se procedió a la réplica por cada uno de los miembros del Comité, quienes al concluir deliberaron en sesión privada, acordando aprobarla al alumno(a) con una calificación de 10 (Diez) y que la tesis tiene un avance del 100%

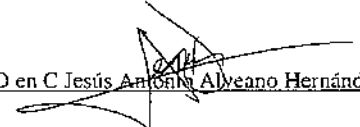

OBSERVACIONES:

Puede iniciar trámite para examen de grado

COMITÉ TUTORAL

 <u>M en C Víctor Manuel Farías Rodríguez</u> PRESIDENTE	 <u>M en SP José Luis Martínez Toledo</u> VOCAL 1	 <u>D en C Jesús Antonio Alveano Hernández</u> VOCAL 2
--	---	--

 <u>Guadalupe Partida Hernández</u> DIRECTOR(A) DE TESIS	 <u>Cleto Álvarez Aguilar</u> DIRECTOR(A) DE TESIS	 <u>Libertad Escudero Hernández</u> SUSTENTANTE
--	--	---

 <u>D en C Jesús Antonio Alveano Hernández</u> Coordinador(a) del área terminal	 <u>D. en C. Martha Eva Viveros Sandoval</u> Coordinadora de la Maestría en Ciencias de la Salud
---	---



ABREVIATURAS

aa	Aminoácidos
ACC	Colegio Americano de Cardiología
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ADR	Adrenalina
AHA	Asociación Americana del Corazón
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
ARA II	Antagonista de los receptores de angiotensina II
ARN	Ácido Ribonucleico
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de la varianza con un factor
ATP	Adult Treatment Panel
BPC	Buenas Prácticas Clínicas
CARDIA	Coronary Artery Risk Development in Young Adults
c-HDL	Lipoproteínas de alta densidad
CI	Cardiopatía isquémica
CIBIMI	Centro de Investigación Biomédica de Michoacán
c-LDL	Lipoproteínas de baja densidad
CKD – EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CO ₂	Dióxido de Carbono
CT	Colesterol total
DA	Dopamina
DE	Desviación estándar
DG	Diabetes gestacional
DM	Diabetes Mellitus
EAC	Desenlaces duros controlados
ECV	Enfermedad Cardiovascular
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
EGIR	European Group for the Study of Insuline Resistance
ELISA	Enzyme – Linked InmunoSorbent Assay
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EPO	Eritropoyetina
ER	Enfermedad Renal
ERC	Enfermedad Renal Crónica
ERCT	Enfermedad Renal Crónica Terminal
EVC	Enfermedad Vasculat Cerebral
FA	Fibrilación Auricular
FAD	Flavin Adenin Dinucleótido
FC	Frecuencia Cardiaca
FCR	Fuerza Centrífuga Relativa
FR	Factor de Riesgo
FRCV	Factor de Riesgo cardiovascular

GAA	Glucosa Alterada en Ayuno
GABA	Ácido gamma – amino butírico
GC	Cromatografía gaseosa
HbA _{1c}	Hemoglobina Glucosilada
HIV	Hipertrofia Ventricular Izquierda
HMMA	Ácido 4 hidroxí 3 metoximandélico
HPA	Hipotálamo Hipófisis Suprarrenal
HPLC	Cromatografía líquida de alta performance
HRR	Heart Rate Recovery
ICC	Insuficiencia Cardíaca Congestiva
IG	Intolerancia a la Glucosa
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
IMC	Índice de Masa Corporal
IOM	Instituto de Medicina Americana
JNC – VII	The Seventh Report of the Join National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure
lpm	Latidos por minuto
MAO	Monoamino Oxidasa
MDRD - IDMS	Modification of Diet in Renal Disease – Isotopic dilution Mass Spectrometry
MGC	Mammalian Gene Collection Project
MmHg	Milímetros de Mercurio
NA	Noradrenalina
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleótido
NADP	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
NCEP	National Cholesterol Education Program
NHLBI	Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre
NIDDK	National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORF	Open Reading Frame
PAD	Presión Arterial Diastólica
PAM	Presión Arterial Media
PAO	Poli-amino oxidasa
PAS	Presión Arterial Sistólica
PTOG	Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa
RI	Resistencia a la Insulina
RNLS	Renalasa
sAA	Alfa Amilasa Salival
SAM	Sistema Simpato Adrenal Medular
SM	Síndrome Metabólico
SNA	Sistema Nervioso Autónomo

SNP
SNS
TFG
TG
UMF

“Snip” de un solo nucleótido
Sistema Nervioso Simpático
Tasa de Filtración Glomerular
Triglicéridos
Unidad de Medicina Familiar

RELACION DE CUADROS:

Núm.	Denominación:	Página
I	Variables antropométricas y clínicas de la población estudiada.	55
II	Variables bioquímicas de la población estudiada.	56
III	Variables antropométricas y clínicas del grupo de diabetes mellitus tipo 2	57
IV	Variables bioquímicas del grupo de diabetes mellitus tipo 2.	58
V	Correlación entre renalasa sérica y alfa amilasa salival con las variables estudiadas.	60

RELACION DE FIGURAS:

Núm.	Denominación:	Página
1.	Correlaciones entre la renalasa en suero con otros parámetros	62
2.	Correlaciones entre la alfa amilasa salival y otras variables	63
3.	Correlaciones entre los años de diagnóstico de la diabetes con otras variables	64

RELACION DE ANEXOS:

Núm.	Denominación:	Página
1.	Carta de consentimiento informado	91
2.	Formato de captura	93
3.	Cronograma de actividades	95

ÍNDICE

CONTENIDO:	PÁGINA:
Resumen	i
Abstract	ii
1 Antecedentes	1
2 Planteamiento del problema	27
3 Justificación	31
4 Hipótesis de trabajo	34
5 Objetivos	36
6 Material y métodos	38
7 Resultados	52
8 Discusión	65
9 Conclusiones	72
10 Sugerencias	75
11 Referencias bibliográficas	77
12 Anexos	90
Total de páginas	95



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"



1. RESUMEN

RENALASA SÉRICA Y ALFA AMILASA SALIVAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

México ocupa el sexto lugar mundial de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Renalasa (RNLS) es una hormona de reciente descubrimiento, metaboliza las catecolaminas circulantes. Alfa amilasa salival (sAA), se relaciona con la digestión de los carbohidratos; ambas han sido propuestas como marcadores de la actividad simpática.

El objetivo del trabajo fue evaluar las concentraciones de RNLS sérica, sAA y catecolaminas en pacientes con DM2 en comparación con otros tres grupos.

En un estudio prospectivo, transversal, comparativo y clínico se analizaron a 163 individuos, agrupados en 4 grupos. **Grupo 1:** 14 sujetos sanos aparentemente (95); **Grupo 2:** 43 con componentes del Síndrome metabólico (SM), (26%); **Grupo 3:** 93 pacientes con DM2 (57%); y **Grupo 4:** 13 (8%) con nefropatía diabética en hemodiálisis. Todos los resultados fueron comparados con el grupo 1. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante pruebas de tendencia central y dispersión, correlación de Pearson para establecer asociación y riesgo; ANOVA para determinar diferencia entre las medias al comparar más de tres grupos. Se consideró a p como significativa con un valor menor a 0.05. Los pacientes con ERCT tuvieron concentraciones mayores de Catecolaminas en relación a los otros grupos. Renalasa fue menor en los pacientes con ERCT y controles sanos. ($\bar{x} = 9.2 \pm 2.7$ DE vs 10.4 ± 2.4 respectivamente). Hubo una correlación positiva entre catecolaminas y años de evolución de DM2 y negativa entre renalasa y presión arterial. Se observó una tendencia al aumento en las concentraciones de sAA en los pacientes con ERCT. Se evidenció una correlación inversa entre renalasa sérica y presión arterial, urea, creatinina en suero y catecolaminas plasmáticas; así como una correlación positiva entre la frecuencia cardiaca (FC) y la Tasa de Filtración Glomerular (TFG); sAA mostró una correlación inversa solo con la TFG y una positiva con la presión arterial, los años de diagnóstico de DM2, urea y creatinina en suero y con las concentraciones de catecolaminas en plasma. Nuestros resultados sugieren una posible asociación entre la actividad simpática y DM2; hiperactividad del Sistema Nervioso Simpático en los pacientes con ERCT y valores mayores en renalasa que en los grupos poblacionales estudiados por otros autores. Lo anterior sugiere diferencias metodológicas y probablemente un estado de Resistencia a renalasa.

Palabras clave: Renalasa / Alfa amilasa salival / Diabetes mellitus 2



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"



2. ABSTRACT

SERUM RENALASE AND SALIVARY ALPHA AMYLASE IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

México holds the sixth place worldwide in Diabetes Mellitus type 2. Renalase (RNLS) is a hormone of recent discovery, it metabolizes the circulating catecholamines. Salivary alpha amylase is related to the carbohydrate digestion; both have been proposed as sympathetic activity markers.

The target of this work was to evaluate the RNLS serum concentration, sAA and catecholamines in patients with DM2 compared with three other groups.

In a prospective, transversal, comparative and clinical screening, 163 individuals were analyzed, arranged in three groups. **Group 1:** 14 apparently healthy individuals (95); **Group 2:** 43 with metabolic syndrome (MS) components (26%); **Group 3:** 93 patients with DM2 (57%) and **Group 4:** 13 (8%) with diabetic nephropathy in hemodialysis. All the results were compared with group 1. The statistical analyses were made through central tendency and dispersion tests, Pearson correlation in order to establish association and risk; ANOVA to determinate the difference between the means when comparing more than three groups. With a lower value than 0.05, p was considered as significant. The patient with chronic kidney disease (CKD) has higher catecholamine concentrations compared to the other groups. Renalase was lower in patients with CKD and healthy controls ($\bar{X} = 9.2 \pm 2.7$ DE vs 10.4 ± 2.4 respectively). There was a positive correlation between catecholamines and the evolution years of DM2 and there was a negative correlation between renalase and arterial pressure. A tendency to increase the sAA concentration was observed in patients with CKD. An inverse correlation between serum renalase and arterial pressure, urea, serum creatinine and plasmatic catecholamines; as well as positive correlation between heart rate and the glomerular filtration rate (GFR). A reverse correlation with GFR and positive correlation with arterial pressure, years of DM2 diagnosis, urea and creatinine were shown. Our results suggest a possible association between sympathetic activity and DM2; sympathetic nervous system hyperactivity in patients with CKD and higher renalase values than in the population groups studied by other authors. The previous suggest methodology differences and probably a renalase resistance state.

Key words: Renalase / Salivary alpha amylase / Diabetes Mellitus 2

1. ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES:

Diabetes mellitus tipo 2:

Diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico de etiología múltiple, caracterizado por hiperglucemia crónica con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas que traduce defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina.

La condición bioquímica está dada por una concentración alta de glucosa en sangre. Prácticamente en forma simultánea se desarrollaron los nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación de la Diabetes mellitus. Expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) basaron la clasificación de esta enfermedad en su etiología y características fisiopatológicas. Así, se contemplan cuatro grupos:

1. Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)
2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)
3. Otros tipos específicos de diabetes
4. Diabetes gestacional (DMG)

La prevalencia creciente de DM a nivel mundial es alarmante, así en 2011 aproximadamente 360 millones de personas tenían DM y de ellas, más del 95 % correspondería a DM2. Se calcula que este número va a aumentar hasta 552 millones en el año 2030 y la mitad de ellos desconocerán su diagnóstico. ¹

La DM2 se desarrolla después de un largo periodo de Resistencia a la insulina (RI) euglucémica que progresa. La OMS recomienda usar la glucohemoglobina como el test diagnóstico de la DM, aunque existe cierta preocupación en cuanto a su sensibilidad para predecir DM y los valores de Hemoglobina glucosilada (HbA_{1c})

<6.5% no excluyen la DM que puede detectarse mediante la determinación de glucosa plasmática en ayuno. ¹

Los criterios diagnósticos adoptados por la OMS y la ADA para valores de hiperglucemia intermedios son similares para la Intolerancia a la glucosa (IG) pero difieren en la Glucosa alterada en Ayuno (GAA). El umbral más bajo de la ADA para la GAA es de 101 mg/dL mientras que la OMS recomienda el punto de corte original de 110 mg/dL. ²

La ADA recomienda mantener valores de glucosa en ayuno entre 80 y 130 mg/dL y no como en el pasado, de 70-130 mg/dL, para reflejar control de la enfermedad; también recomienda mantener una presión diastólica de 80 vs 90 mmHg en personas con diabetes e hipertensión. Se debe iniciar tratamiento con estatinas en el momento del diagnóstico de DM2 independientemente de los valores de c-LDL. ¹

Cerca del 70 % de la mortalidad en pacientes con diabetes es secundaria a la coexistencia de enfermedad cardiovascular.³ Además, la hipertensión es el principal factor de riesgo para presentar enfermedad cardiovascular, incluida enfermedad coronaria y Enfermedad Vascolar Cerebral (EVC). ⁴ La hipertensión arterial es una comorbilidad común en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 y un factor de riesgo mayor para el desarrollo de complicaciones macro y micro vasculares. ⁵⁻⁸

La relación entre diabetes e hipertensión no ha sido dilucidada por completo. La manifestación y severidad de hipertensión depende de la combinación de predisposición inherente y factores ambientales. La identificación de factores de riesgo para el desarrollo de hipertensión es esencial para la predicción de enfermedad cardiovascular y/o diabetes. Un estudio realizado en población polaca reclutó un total de 1422 sujetos agrupados como sigue: 892 con DM2, 400 controles y 130 con EVC sin DM2, mismos que fueron tipificados con tres Polimorfismos de un solo nucleótido o “snips” (SNP) del gen de renalasa. Se encontró que el “Snip” o SNP rs2296545 del

alelo G, se asociaba con hipertensión ($p < 0.01$) lo que concluye que este polimorfismo se asocia con hipertensión en pacientes con DM2. Adicionalmente se encontró una fuerte asociación del polimorfismo rs10887800 con EVC en pacientes con y sin DM2. Este es el primer artículo publicado que asocia el gen de renalasa con hipertensión y EVC en población europea y demuestra asociación de hipertensión en pacientes con DM2 mediante el polimorfismo rs 2296545. ⁹

La DM2 y la ECV se desarrollan en paralelo a ciertas anomalías metabólicas que reflejan y causan cambios en la vasculatura. La asociación observada entre riesgo vascular y RI, a menudo denominada Síndrome metabólico (SM), ha llevado a pensar que el riesgo cardiovascular aparece precozmente, antes de que se desarrolle DM2, mientras que la relación estrecha entre hiperglucemia y enfermedad micro vascular (retinopatía, nefropatía, neuropatía) indica que este riesgo no se vuelve aparente hasta que aparece hiperglucemia franca. Uno de los problemas al momento de diagnosticar DM2 es la ausencia de un único marcador biológico –aparte de la glucosa plasmática posprandial- que pueda diferenciar la Glucosa alterada en ayuno (GAA), IG o la DM2 del metabolismo normal de la glucosa. ¹

DIABETIMSS, programa de atención al paciente diabético:

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) diseñó y puso en marcha en el año 2008 un programa dirigido a los pacientes con diagnóstico de Diabetes mellitus, con la finalidad de otorgar atención eficiente e integral y alcanzar el control metabólico, así como identificar tempranamente o prevenir las complicaciones crónicas; de igual manera, otorgar tratamiento oportuno a sus derechohabientes. ¹⁰

Por otra parte, la evidencia científica explica que se puede prevenir la diabetes con medidas llamadas de “cambio de estilo de vida” o con medicamentos. La primera es dos veces más eficaz que los fármacos (58%); además, los efectos del cambio de estilo de vida que incluyan educación nutricional y práctica de actividad física suelen mantenerse a largo plazo y a pesar de tener apego parcial se observan efectos favorables. ¹¹

Con el programa DiabetIMSS se organiza la atención médica en procesos centrados en las necesidades y los valores de los pacientes, se fomenta el trabajo en equipo y se faculta al personal operativo para la toma de decisiones coordinadas entre cada uno de los integrantes, incluido el paciente. De esta manera se llevan a cabo actividades simultáneas para los pacientes, como la consulta individual con el médico familiar y las sesiones en grupo que se otorgan por el equipo multidisciplinario de salud (enfermera, nutricionista, estomatólogo, trabajador social y psicólogos, en donde se tiene disponible a este personal). La finalidad es llevar al paciente a metas de control metabólico, evitar complicaciones, lograr un incremento en la calidad y esperanza de vida del paciente y por supuesto, reducción en los costos operativos para las Instituciones de Salud. ¹⁰

Síndrome metabólico:

Se define Síndrome metabólico (SM) al conjunto de factores de riesgo de ECV y DM2, incluidos el aumento de la presión arterial, dislipidemia (Triglicéridos elevados y c-HDL bajo), aumento de glucosa plasmática y obesidad central. Los pacientes con SM incrementan al doble, el riesgo de sufrir ECV y muestran también 5 veces más riesgo de desarrollar DM2. ²

El SM se está convirtiendo en uno de los principales problemas de salud pública del siglo XXI, asociado a un incremento de 5 veces en la prevalencia de diabetes tipo 2 y de 2-3 veces en la de ECV. ^{12-14.}

Se considera que el SM es un elemento importante en la epidemia actual de diabetes y de ECV, de manera que se ha convertido en un problema de salud pública en todo el mundo. La morbilidad y la mortalidad prematuras debidas a ECV y diabetes podrían desequilibrar completamente los presupuestos sanitarios de muchos países desarrollados o en vías de desarrollo. De hecho, el SM no es una entidad nueva; su descripción tuvo lugar hace al menos 80 años (en la década de los años veinte) por parte de Kylin, un médico sueco que definió la asociación entre hipertensión, hiperglucemia y gota. La importancia clínica del síndrome metabólico fue destacada de nuevo 20 años después por Reaven ¹⁵ quien describió la presencia de un conjunto de alteraciones metabólicas cuyo rasgo fisiopatológico central era la resistencia a la insulina. Reaven denominó a este cuadro “síndrome X” pero, de manera sorprendente, no incluyó la obesidad en él; sin embargo, la obesidad se ha recogido en el concepto de síndrome metabólico en todas las definiciones posteriores. ¹⁶⁻¹⁸

Desde la primera definición oficial del síndrome metabólico realizada por el Grupo de Trabajo de la OMS en 1999,¹⁹ se han propuesto diversas definiciones alternativas. Las más aceptadas han sido las elaboradas por el European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) ²⁰ y por el Adult Treatment Panel III (ATP-III) del National

Cholesterol Education Program (NCEP).¹⁶

Las nuevas guías ATP-IV (Asociación Americana del Corazón/ Colegio Americano de Cardiología/ Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre) ²¹, a diferencia de las guías ATP-III no son sólo un compendio sobre el manejo de los lípidos, sino de la respuesta amplificada a varias preguntas de la práctica clínica, basadas lo más cercanamente posible en evidencias sólidas. Siguen las indicaciones del Instituto de Medicina Americano (IOM) para la elaboración de guías, que exigen que cada recomendación sea estrictamente basada en evidencias de alta calidad proveniente casi exclusivamente de estudios aleatorizados y controlados de desenlaces duros (EAC), de revisiones sistemáticas y meta-análisis de estos EAC.²²

Enfermedad renal crónica:

Se define la Enfermedad Renal Crónica (ERC) como el daño renal o la tasa de filtración glomerular (TFG) menor de 60 mL/min/1.73 m² SC que se presentan durante 3 meses o más, independientemente de la causa. El término “Insuficiencia” fue cambiado por “Enfermedad” para darle mayor importancia y realzar la importancia de tomar medidas para mejorar la evolución a través de la prevención, detección, evaluación y tratamiento.²³

Las principales causas de ERC son la Diabetes mellitus y la hipertensión arterial aunque también existen otros factores de riesgo como edad, historia familiar, raza, bajo nivel educativo y económico, enfermedades crónicas, sistémicas y toxicidad por fármacos.^{24,25}

Los pacientes con ERC tienen más probabilidad de morir por causa cardiovascular que de progresar a etapa terminal. En la ERC, la hipertensión, la dislipidemia y la diabetes mellitus son los principales factores de riesgo de disfunción endotelial, inflamación, estrés oxidativo y arterioesclerosis acelerada. La ECV acelerada es una complicación frecuente de la Enfermedad renal (ER). La ERC se asocia con un significativo incremento de riesgo de morbilidad cardiovascular al margen de la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) tradicionales como la DM2, la hipertensión arterial, la concentración de lipoproteínas y el hábito tabáquico, hasta el punto de que se la considera un FRCV independiente, según la National Kidney Foundation, la American Heart Association y el Seventh Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure.²⁶

Los pacientes con ERC muestran mayor prevalencia de insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), cardiopatía isquémica (CI) en cualquiera de sus formas clínicas, incluida la isquemia silente, arritmias ventriculares complejas, fibrilación auricular (FA), hipertrofia ventricular izquierda (HVI), rigidez y calcificación arterial y calcinosis del anillo mitral y de la válvula aórtica. La reducción del filtrado glomerular predice la inci-

dencia de episodios isquémicos ²⁷ porque refleja más probabilidad de muerte por proceso CV que por insuficiencia renal ^{28,29} en parte no por recibir el tratamiento cardioprotector adecuado al riesgo.³⁰ La mitad de los pacientes con enfermedad renal avanzada o terminal mueren por causa cardiovascular ²⁹⁻³² que es de 15 a 30 veces más elevada que la de la población general tras los ajustes por edad. Este proceso progresa a través de varios mecanismos como HVI, rigidez arterial, inflamación, disfunción endotelial, estrés oxidativo y formación precoz de placas de ateroma. El 40 % de los pacientes que inician tratamiento sustitutivo de función renal, tienen afección coronaria y el 85 %, alteraciones en la estructura y/o la función del ventrículo izquierdo (VI). ³²

La mayoría de los pacientes que inician tratamiento sustitutivo de la función renal tienen hipertensión arterial, lo que sugiere que el control de ésta es importante para reducir la mortalidad cardiovascular. La relación entre hipertensión arterial y mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC es compleja debido a la alta prevalencia de comorbilidades y anomalías vasculares subyacentes.³³

Estadios evolutivos de la ERC según la propuesta de la Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO):

La ERC es progresiva y sigue un patrón constante que depende de su etiología y del propio paciente.

Estadio 1: pacientes con diabetes y microalbuminuria con una TFG normal.

Estadio 2: se establece por el daño renal asociado con la ligera disminución de la tasa de filtración glomerular entre 89 y 60 mL/min/1.73 m². Por lo general, el paciente no tiene síntomas y el diagnóstico se establece de manera incidental.

Estadio 3: es la disminución moderada de la TFG entre 30 y 59 mL/min/1.73 m². El estadio 3 se divide en dos etapas. La etapa temprana 3a es la de pacientes con TFG entre 59 y 45 mL/min/1.73 m² y la etapa tardía 3b con TFG entre 44 y 30 mL/min/1.73m². Cuando la función renal disminuye, en el torrente sanguíneo se acumulan sustancias tóxicas que ocasionan uremia. Lo común es que los pacientes tengan síntomas y complicaciones típicas originadas por la hipertensión, anemia y alteraciones del metabolismo óseo.

Estadio 4: se refiere al daño renal avanzado con disminución grave de la TFG entre 15 y 30 mL/min/1.73 m². Pacientes con alto riesgo de complicaciones cardiovasculares.

Estadio 5: o insuficiencia renal crónica terminal, la TFG cae por debajo de 15 mL/min/1.73 m². En este estadio se requiere tratamiento sustitutivo. 24

La identificación del paciente con enfermedad renal crónica permite intervenciones tempranas para evitar la progresión renal y prevenir complicaciones cardiovasculares.

Existen diversas fórmulas para determinar la tasa de filtración glomerular; la fórmula de Cockcroft-Gault es la más utilizada y la de más fácil acceso para clasificar a la enfermedad renal crónica.

$$\text{Aclaramiento creatinina} = \frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (en kilogramos)}}{72 \times \text{Creatinina en plasma (en mg/dl)}} \times (0,85 \text{ si es mujer})$$

Sin embargo, recientemente el grupo CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) ha publicado una nueva ecuación de estimación del filtrado glomerular (FG) desarrollada a partir de una población de 8,254 individuos a los que se midió el FG mediante aclaramiento de iodotalamato (media 68 ml/min/1,73 m², DE 40 ml/min/1,73 m²), y que incluye como variables la creatinina sérica, la edad, el sexo y la raza, con distintas versiones en función de la etnia, el sexo y el valor de la creatinina. La ecuación de CKD-EPI mejoró los resultados en cuanto a exactitud y precisión de la ecuación de elección actual MDRD-IDMS (Modification of Diet in Renal Disease-Isotopic Dilution Mass Spectrometry) en especial para valores de FG superior a 60 ml/min/1,73 m² en un grupo de 3.896 individuos. El CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) es un grupo de investigación dependiente del National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease (NIDDK) formado para desarrollar y validar ecuaciones de estimación del FG a partir de datos procedentes de distintos estudios.

Según el mismo estudio, la comparación de CKD-EPI frente a MDRD-IDMS pone de manifiesto que la primera produce mejores resultados, en especial para valores de FG superiores a 60 ml/min/1,73 m², mejorando la imprecisión y la exactitud frente a la

medida directa del FG, motivo por el cual los autores llegan a la conclusión que CKD-EPI debería sustituir a MDRD-IDMS en la práctica clínica habitual. El mejor índice para valorar la función renal es la medida del FG.³⁴

En el Instituto Mexicano del Seguro Social se estima una incidencia de pacientes con ERC de 377 casos por millón de habitantes y prevalencia de 1, 142. Actualmente, en México, existen alrededor de 52, 000 pacientes en terapias sustitutivas de función renal (diálisis peritoneal o hemodiálisis), de los cuales el 80 % se atienden en esta institución. La diabetes mellitus ocupa el primer lugar entre las causas de ERC en México por lo que la prevención de sus complicaciones, es la clave para disminuir la repercusión económica que esta enfermedad representa para los mexicanos ya que llega a absorber incluso 18 % del presupuesto asignado al Sistema de Salud.^{24,25}

La nefropatía diabética es una enfermedad renal progresiva; se debe principalmente a diabetes de larga evolución y es la causa principal de enfermedad renal crónica, diálisis peritoneal, hemodiálisis y trasplantes renales en el mundo. La pérdida de proteínas en orina aparece 5 a 15 años después del inicio de la diabetes clínica, ya sea tipo 1 o tipo 2. La filtración glomerular aumenta en un principio y no desciende hasta que aparece proteinuria detectable por métodos habituales. Lo anterior lleva al paciente diabético a enfermedad renal crónica terminal. La nefropatía diabética fue descrita por el médico inglés Clifford Wilson (1906-1997) y por un médico estadounidense nacido en Alemania, Paul Kimmelstiel (1900-1970). Los cambios anatómicos son engrosamiento de la membrana basal, atrofia tubular, fibrosis intersticial y arterioesclerosis. Se sugiere que la acumulación de proteínas en el citoplasma de las células tubulares proximales causa una reacción inflamatoria que da origen a lesiones túbulo intersticiales. Una vez que se presenta pérdida de albumina por la orina es casi imposible detener la progresión de la nefropatía, pero si es posible retardar sustancialmente su evolución. Lo anterior se logra con un control estricto tanto de la hipertensión arterial como de la glucosa y el uso de algunos

medicamentos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II).³⁵

La ERC se asocia con un alto riesgo para el desarrollo de ECV debido a la presencia de diversos factores de riesgo. Ocurre hipertensión en aproximadamente 80-85 % de los pacientes con ERC y su etiología es multifactorial. La actividad del sistema nervioso simpático se encuentra incrementada en pacientes con ERC y favorece el aumento de la resistencia vascular y la presión arterial sistémica. Esta hiperactividad produce un incremento en la secreción de catecolaminas y disminución de su filtración a nivel renal.³⁶

El control de las cifras tensionales es muy pobre en los pacientes nefrópatas estando involucrados diversos factores como retención de agua, ingestión de sal, incremento en la actividad de los sistemas vasoconstrictores, la actividad disminuida de los sistemas vasodilatadores, el incremento del calcio intracelular, el endurecimiento arterial, el estrés oxidativo, el hiperparatiroidismo, la inflamación, apnea del sueño, enfermedad reno vascular y la hiperactividad del sistema nervioso simpático. La filtración de norepinefrina se reduce progresivamente y en relación al porcentaje de TFG. Así, en fases iniciales de ERC se reduce un 20 % y hasta en un 40 % en los pacientes que se encuentran en hemodiálisis, es decir, en estadio V de ERC.³⁷

Renalasa (RNLS)

A partir de la observación en 2005 de un elevado riesgo cardiovascular en pacientes con ERC se iniciaron investigaciones acerca de la presencia de proteínas secretadas por el riñón que desempeñen un alto impacto cardiovascular. Así, Xu y colaboradores desde 2003, estudiaron la base de datos públicos que contienen las tarjetas de genes de nuevas proteínas. Al revisar el MGC (Mammalian Gene Collection Project) que contiene 12,563 genes de 77 bibliotecas de cADN humanos con un completo Open Reading Frame o marco de lectura abierto (ORF), identificaron 114 genes candidatos sobre los cuales analizaron su expresión tisular en tejido humano por Northern Blot (Método que contiene geles para detectar ARNm). Un clon, el MGC 12474 se distinguió por la potencia de su expresión en el riñón y limitada distribución tisular. Tras verificar esta sustancia en el ser humano, se le llamó “Renalasa”; a este gen también se identifica como C10orf59 o FLJ 11218.³⁸

El gen de RNLS se localiza en el cromosoma 10 en q 23,33, comporta 7 exones que se extienden sobre aproximadamente 309,469 pares de bases (pb) y codifica a una proteína compuesta por 342 aminoácidos (aa) con un peso molecular de aproximadamente 38kDa. Estructuralmente tiene un péptido en la extremidad N-terminal (o péptido señal), un sitio de unión a la FAD (aa 4 a 35) y un dominio amino-oxidasa en los aa 75 a 339.³⁹

Se reconocen al menos 4 isoformas posibles, pero solamente 2 se han relacionado con efectos en humanos, la h-renalasa 1 y h-renalasa 2 que difieren solamente en el número de aa (342 y 315 respectivamente).⁴⁰ h-renalasa 1 es la forma mejor conservada y tiene ortólogos presentes en el chimpancé (95 % aa idénticos) y cianobacterias (23% idénticos).⁴¹

La expresión en riñón humano (glomérulo y túbulo proximal) ha sido confirmada por hibridación in situ y su detección por inmunohistoquímica. También se expresa aunque en menor medida en corazón, músculo esquelético hígado e intestino delgado.⁴² Un estudio reciente muestra que renalasa también se expresa en el sistema reproductor.⁴³ La renalasa metaboliza particularmente las catecolaminas circulantes (adrenalina, noradrenalina) provocando su disminución y por tanto controlando el elevado tono simpático, responsable en parte de las complicaciones cardiovasculares. La renalasa es secretada en una forma inactiva monomérica conocida como prorenalasa y se activa en una distribución dimérica con actividad amino-oxidasa, la que regula las catecolaminas sanguíneas y el aumento de la presión sistólica; luego de lo cual se estimula la secreción de renalasa renal.³⁸ Los tipos de Monoamino-oxidasa A y B, (MAO A y MAO B) son enzimas que contienen flavina, ancladas en la terminación carboxilo hasta la membrana mitocondrial externa, catabolizan a los neurotransmisores, entre ellos, Adrenalina (ADR), Noradrenalina (NA), la serotonina y la dopamina (DA), éstas son inhibidas expresamente por la pargilina y la clorgilina. La poliamino oxidasa (PAO), es otra oxidasa intracelular que contiene Flavin Adenin Dinucleótido (FAD), y metaboliza a la espermina y la espermidina. Regula asimismo el crecimiento celular. La renalasa posee una región de unión a la FAD para su actividad de oxidasa y tiene una débil homología con los aminoácidos (aa) de MAO A y MAO B, una especificidad de sustrato y un perfil inhibitorio distintos, lo que indica que esta proteína representa una nueva clase de MAO que contiene FAD. Los pacientes con tratamiento en hemodiálisis tienen concentraciones de renalasa reducidas,^{38, 42} lo que sugiere que el riñón podría ser la fuente más importante de renalasa circulante debido a que otros tejidos que sintetizan renalasa (intestino delgado, músculo esquelético, testículo) no compensan el déficit de ésta durante la insuficiencia renal. Respecto a la concentración de esta hormona, en sangre es mucho más elevada que en orina, sin embargo, renalasa urinaria tiene una actividad 100 veces mayor.⁴²

Renalasa se distingue de las otras monoamino oxidasas debido a que tiene un sustrato y un inhibidor diferente por lo que recientemente fue designada también Monoamino Oxidasa C por Gary V.Desir su inventor, con patente N° US 7, 700,095 B2.^{44, 45}

En 2013 Beaupre Ba y cols. publicaron en importante revista, un artículo controversial acerca de renalasa. Se describe a la hormona efectivamente como una hormona proteica secretada a partir del riñón y vertida hacia la circulación pero esta, la llamada “la tercer monoamino oxidasas” no ha demostrado en forma convincente su catálisis in vitro. Renalasa es una flavoproteína con topología estructural similar a la conocida en oxidasas, lisinas desmetilasas y monooxigenasas pero esta actividad no es semejante a las conocidas en ninguna flavoproteina. Este grupo de estudio identifico la actividad catalítica de renalasa como una α -NAD(P)H oxidasa/anomerasa por lo que concentraciones bajas de α -anomerasa de NDPH y NADH inician una rápida reducción del cofactor flavina de renalasa. La reducción de su cofactor reacciona con dioxigeno para formar peróxido de hidrogeno y nicotinamida dinucleotido en la forma β . Esta actividad es la primera demostración de un papel fisiológicamente potencial de α NAD(P)H en mamíferos y el primer ejemplo de una flavoproteína que cataliza una reacción de anomerizacion.⁴⁶

En condiciones basales, el plasma humano carece de actividad amino oxidasa así como una falta de actividad de renalasa lo que sugiere que en tales condiciones no tiene actividad amino-oxidasa o puede circular como una pro enzima que requiere señales específicas para su activación. En ejemplares murinos, la inyección de renalasa recombinante disminuye la contractilidad del miocardio, la frecuencia cardiaca y la presión arterial e impide el aumento compensador del tono vascular periférico. También actúa sobre los fibroblastos maduros de los túbulos intersticiales renales promoviendo la secreción de eritropoyetina (EPO). Se propone que la administración de esta enzima podría mejorar la regulación de la presión arterial y las consecuencias cardiovasculares en esta población de pacientes así como contribuir a

mejorar los niveles de hemoglobina en pacientes con anemia y ERC. La expresión de renalasa es susceptible de ser detectada en plasma humano gracias al análisis por Western Blot.⁴⁷

Recientemente se ha implicado al incremento en la actividad del sistema nervioso simpático en la patogénesis de hipertensión en los nefrópatas; esto ha sido demostrado mediante el incremento de catecolaminas plasmáticas en este grupo de pacientes. La hiperactividad simpática sostenida puede además, llevar al deterioro de la función cardiaca. La modificación de la actividad adrenérgica por renalasa puede ser medida mediante la hipótesis que concentraciones altas de norepinefrina en el plasma se relacionan a hipertrofia ventricular y complicaciones cardiovasculares en los pacientes con ERCT. En un estudio realizado en 30 ratas macho Wistar albino que fueron nefrectomizadas y que como consecuencia desarrollaron un incremento en la presión arterial media, hipertrofia ventricular, hiperazoemia e incremento de noradrenalina en plasma se administró renalasa recombinante resultando una disminución en todos los parámetros con excepción de las concentraciones de azoados.⁴⁸

La concentración de renalasa es regulada mediante tres factores: la función renal, la perfusión renal y las concentraciones de catecolaminas.⁴¹

Es factible también medir la concentración de renalasa, esto mediante ELISA. Método con alta sensibilidad y excelente especificidad. La cantidad mínima detectable de RNLS es típicamente menor a 0.52 ng/mL.⁴⁹

Se ha considerado a RNLS como un nuevo candidato para el diagnóstico de Diabetes mellitus tipo 2.⁵⁰

Se especula que la terapia de reemplazo con renalasa podría prevenir la enfermedad cardiovascular en pacientes con Enfermedad Renal Crónica.⁵¹ El mecanismo exacto por el cual RNLS regula la presión arterial sanguínea y mejora la función cardiaca no

es clara por completo.⁵² por lo cual se requieren más estudios tanto a nivel molecular como como clínicos para dilucidar este mecanismo.

Catecolaminas:

Las aminas biogénicas reciben el nombre de neurotransmisores. Estas aminas son fundamentalmente la dopamina, la noradrenalina, la serotonina y el ácido gama aminobutírico (GABA). Dopamina y noradrenalina poseen un anillo catecol por lo cual se les llama catecolaminas (la hormona adrenalina es también una catecolamina). La dopamina, es precursora inmediata de la noradrenalina. La noradrenalina se sintetiza no solo en el cerebro, sino también en la médula suprarrenal. Esta amina es metilada en el hidrogeno por la metionina para dar la hormona adrenalina, que se libera de la médula suprarrenal.⁵³

Las dos hormonas principales sintetizadas por la medula suprarrenal son la adrenalina y la noradrenalina. La adrenalina constituye cerca del 80 % de la secreción total de la glándula. Ambas hormonas son simpaticomiméticas; esto es, producen efectos que imitan aquello que se lleva a cabo por la división simpática del sistema nervioso autónomo. La adrenalina y la noradrenalina aumentan la presión sanguínea elevando la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción así como la vasoconstricción, aceleran el índice de frecuencia respiratoria, dilatan las vías respiratorias, disminuyen el índice de la digestión, aumentan la eficiencia de las contracciones musculares, aumentan las concentraciones de azúcar en la sangre y estimulan el metabolismo celular. La hipoglucemia también puede estimular la secreción celular de adrenalina y noradrenalina.⁵⁴

La introducción de la cromatografía gaseosa (GC) y de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) permitió la cuantificación de catecolaminas con un alto grado de sensibilidad y especificidad eliminando muchos problemas asociados a las técnicas previas espectrofotométricas. Se recomienda la separación del plasma tan pronto o como sea posible luego de la recolección de la muestra de sangre a fin de minimizar las pérdidas de catecolaminas. El traslado de las muestras debe realizarse sobre hielo

y la centrifugación hacerse preferentemente a 4°C dentro de los 30 minutos antes del almacenamiento a – 80°C. El metabolismo renal de las catecolaminas es complejo y en pacientes con ER o falla renal las catecolaminas plasmáticas o las metadrenalininas pueden estar aumentadas dos a tres veces encima de los límites de referencia en pacientes que no tienen feocromocitoma.^{55,56}

La presión sanguínea es extremadamente regulada por el sistema nervioso simpático a través de la acción de hormonas vasoactivas como adrenalina, noradrenalina y dopamina. Una regulación anormal en el metabolismo de catecolaminas contribuye al desarrollo de hipertrofia ventricular, arritmia ventricular, isquemia y necrosis miocárdica.⁴⁷

Estudios recientes sugieren que RNLS puede estar involucrada en la patogénesis de la diabetes. RNLS se expresa en las células pancreáticas secretoras de insulina y los mecanismos subyacentes juegan un papel potencial en el desarrollo de diabetes tipo 1 que no ha sido definido aún con exactitud. Aunque existe evidencia creciente que RNLS podría ser relevante en la patogénesis de enfermedades humanas y a pesar que la estructura cristalina ha sido resuelta, los mecanismos de acción permanecen sin resolverse. Existe evidencia que adrenalina y el precursor de catecolaminas L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) son sustratos fisiológicos para RNLS.⁵⁷

RNLS metaboliza adrenalina in vitro y su deficiencia se asocia con incremento de la presión sanguínea y tres veces más la concentración de adrenalina plasmática⁵⁸, lo que sugiere que su actividad enzimática in vivo es idéntica a la que muestra in vitro.⁴⁷

Aunque la administración intravenosa de h-Renalasa 1 en ratas disminuye significativamente la presión sanguínea, el efecto es breve. Una dosis única de renalasa recombinante (1.3 mg/kg) administrado en forma subcutánea disminuye la presión sistólica y diastólica. El efecto hipotensor de renalasa es similar al equivalente de 5 mg/kg de enalapril. La supresión del gen de renalasa en ratas se asocia con hipertensión y elevación de catecolaminas plasmáticas. Aunque el incremento mayor

es el que se presenta en adrenalina, ambas, dopamina y noradrenalina también se incrementan 1 a 0.5 veces respectivamente. Renalasa se expresa en medula espinal y nervios periféricos y puede modular la concentración de catecolaminas en la unión neuromuscular. La potencia y duración del efecto hipotensor de RNLS se magnifican en ratas con enfermedad renal crónica. La explicación más probable es la disminución de la excreción urinaria que resulta en concentraciones plasmáticas altas de catecolaminas.⁴⁷

RNLS circula como proenzima y carece de actividad enzimática pero es rápidamente activada por la elevación de catecolaminas en el plasma. Desde hace más de treinta años se sabe que las concentraciones plasmáticas de noradrenalina se encuentran elevadas en los pacientes con ERC; esto produce un incremento sustancial en la actividad nerviosa simpática.⁵⁹

La dopamina de origen renal se comporta como una hormona natriuretica endógena disminuyendo la reabsorción tubular de sodio como una sustancia paracrina /autocrina y contribuyendo al control de la presión sanguínea. Al menos 90% de la dopamina se origina en el riñón. El sistema dopaminérgico intrarenal es una llave moduladora del manejo de sodio y fosfato renales. Datos experimentales proveen experiencia acerca de la regulación de fosfato y sodio a través de renalasa, así como el incremento en la excreción renal de dopamina.⁴³

Los valores de referencia para catecolaminas son los siguientes:

Dopamina: 0.3-62 pg/mL

Adrenalina: 0.2-874 pg/mL

Noradrenalina: 0.5-48 pg/mL⁵⁶

El sistema nervioso autónomo (SNA):

El Sistema Nervioso controla e integra todas las actividades corporales por medio de los cambios de sensaciones (sensoriales), los interpreta (integrativos) y reacciona ante ellos (motores). El Sistema Nervioso Central (SNC) está formado por cerebro y médula espinal. El Sistema Nervioso Periférico (SNP) se clasifica en Sistema aferente y Sistema eferente. El sistema eferente se subdivide en Sistema nervioso somático y en sistema nervioso autónomo. El sistema nervioso somático consiste de neuronas eferentes que conducen los impulsos del SNC al tejido muscular esquelético. El SNA contiene neuronas eferentes que conducen impulsos del SNC hacia el tejido muscular liso, el tejido muscular cardíaco y las glándulas.⁵⁴

El SNA interviene en la regulación de la presión arterial, la motilidad digestiva, las secreciones gastrointestinales, el vaciamiento de la vejiga urinaria, la sudoración, la temperatura corporal y otras muchas actividades, acelera las tasas de otros procesos metabólicos, como la glucogenólisis hepática y muscular y la liberación de glucosa a la sangre. El tono simpático normalmente mantiene casi todas las arteriolas sistémicas contraídas más o menos hasta la mitad de su diámetro máximo. Si el grado de estimulación simpática aumenta por encima de su valor normal, estos vasos pueden contraerse aún más; por el contrario, si desciende por debajo de ese nivel, las arteriolas pueden dilatarse. Si no fuera por el tono simpático continuo de fondo, el sistema simpático sólo sería capaz de ocasionar una vasoconstricción, nunca una vasodilatación.⁶⁰

Los riñones regulan la excreción de Na^+ y agua y por lo tanto desempeñan un papel determinante en el control a largo plazo de la presión arterial. La natriuresis y la diuresis de presión se refieren al aumento en la excreción urinaria de Na^+ y agua que ocurre cuando la presión arterial aumenta. El riñón, a través de su función excretora, regula el volumen circulatorio. El corazón, el sistema nervioso central y el riñón mismo

vigilan este volumen y reaccionan a los cambios al liberar hormonas que actúan en varios sitios corporales para así ajustar el volumen y la presión a niveles apropiados.⁶¹

Hay una creciente evidencia de que la hipertensión esencial es comúnmente neurogénica y es iniciada y sostenida por hiperactividad del sistema nervioso simpático. Los posibles mecanismos incluyen el aumento de flujo simpático central, una inadecuada recaptación neuronal de noradrenalina (NA), disminución de actividad de los barorreceptores arteriales de la circulación nerviosa simpática, y de la neuromodulación simpática por la angiotensina II.⁶²

La posible participación de la hiperactividad simpática se ha descuidado a pesar de la acumulación de evidencia experimental y clínica que sugiere un papel crucial de la activación simpática, tanto para la progresión de la insuficiencia renal y la alta tasa de eventos cardiovasculares en pacientes con ERC. Estudios clínicos demuestran el incremento en las concentraciones plasmáticas de catecolaminas y una notable sensibilidad a noradrenalina ocurren como primeros indicadores de hiperactividad simpática en pacientes con ERC.⁶³

La disfunción del SNA es una complicación establecida de la DM2, ambas entidades se detectan frecuentemente al mismo tiempo. Esto sugiere que la disfunción autónoma puede estar presente antes de la exposición breve a hiperglucemia o aún en el rango normal de glucosa. En el estudio CARDIA (Coronary Artery Risk Development in Young Adults), un grupo de investigadores estudiaron la relación entre la disfunción del sistema nervioso autónomo y el incremento de las concentraciones de insulina y glucosa a través del tiempo y el desarrollo de Diabetes mellitus tipo 2. Ellos usaron la frecuencia cardíaca de recuperación (Heart Rate Recovery HRR) tras el término de una prueba de esfuerzo. HRR se considera un método no invasivo para estimar la función autónoma a través de una prueba de esfuerzo y la sensibilidad a barorreceptores. HRR se define como la diferencia entre la máxima frecuencia cardíaca y la frecuencia cardíaca dos minutos después de la cesación de la prueba

de esfuerzo. Un valor de HRR menor de 42 latidos por minuto (lpm), es indicativo de una reactivación vagal anómala. Se reclutaron 3295 adultos sanos cuyas edades se encontraban entre 18 y 30 años. Todos eran estadounidenses, blancos y negros, procedentes de Birmingham, Alabama, Chicago, Illinois, Minneapolis, Minnesota y Oakland. Cerca de la mitad de los pacientes eran mujeres (54.5%). Se les dió un seguimiento de 15 años y se tomaron muestras en los años 2, 5, 7, 10 y 15. Los pacientes con disminución en la frecuencia cardiaca de recuperación tuvieron concentraciones altas de insulina en cada examen. Durante el estudio, 98 participantes desarrollaron diabetes. La asociación entre HRR y DM2 no fue lineal pero el riesgo de desarrollar diabetes fue significativamente mayor en individuos con una lenta y anormal HRR (< 42 lpm) o frecuencia cardiaca. Este estudio concluye que la disfunción del sistema nervioso autónomo se relaciona al desarrollo de diabetes en una población previamente sana.⁶⁴

Estudios recientes realizados en ratas, sostienen que la denervación renal puede disminuir la presión sanguínea lo cual se atribuye a la supresión de nervios simpáticos, incremento del contenido de RNLS en plasma y aumento en la expresión de esta hormona a nivel renal.⁶⁵⁻⁶⁸

Alfa-amilasa, α -amilasa, sacarasa o ptialina:

Aunque existen diferentes glándulas salivales, las principales son las parótidas, las submaxilares y las sublinguales las cuales se encuentran en pares. Las glándulas salivales están controladas sobre todo por señales nerviosas parasimpáticas procedentes de los núcleos salivales superior e inferior del tronco del encéfalo. Los núcleos salivales se encuentran en la unión entre el bulbo y la protuberancia encefálica; su función se propicia mediante estímulos gustativos y táctiles procedentes de la lengua y la laringe. El sistema parasimpático produce básicamente un incremento de la actividad secretora mientras que el sistema simpático inhibe esa secreción; sin embargo la activación del sistema simpático en forma moderada también produce una discreta acción secretora. El pH de la saliva es alcalino, los valores de referencia se mencionan desde 6 a 7. Cada ser humano segrega al día una cantidad cercana a 1.5 litros.⁶⁰

Alfa-amilasa es un marcador de la actividad simpática que supone casi la mitad de las proteínas totales presentes en la saliva. Es una hidrolasa relacionada con la digestión de los carbohidratos, cataliza la reacción de hidrólisis de los enlaces 1-4 del componente α -Amilasa al digerir el glucógeno y el almidón para formar azúcares simples, es decir, de polisacáridos a monosacáridos; se produce en el páncreas y en las glándulas salivales (principalmente en las parótidas). El intervalo considerado como normal es de 23 a 85 unidades por mililitro (U/mL). Tiene actividad enzimática a un pH de 7. La alfa-amilasa fue la primera enzima en ser identificada y aislada por Anselme Payen en 1833, quien la bautizó en un principio con el nombre de "diastasa".⁶⁹

Estudios farmacológicos básicos en el humano proveen evidencia directa de la sensibilidad de alfa amilasa salival (sAA) en la actividad adrenérgica, específicamente en relación a al estrés psicológico.⁷⁰

La adrenalina afecta la actividad de las glándulas salivares parotídeas también a través de beta receptores no innervados que son por lo tanto responsables de acciones hormonales. Las concentraciones de sAA sugieren que es un marcador indirecto de la actividad del sistema Simpato Adrenal Medular (SAM). El tratamiento con betabloqueadores como propranolol bloquean el aumento inducido por el estrés de los niveles de sAA lo que sugiere que las concentraciones de esta hormona reflejan la actividad betaadrenérgica en el humano.⁷⁰

Recientemente se ha propuesto a alfa amilasa salival como un biomarcador no invasivo y objetivo de estrés crónico psicosocial, padecimiento en el que la actividad de la hormona se encuentra elevada.⁷¹

La actividad nerviosa simpática se incrementa en pacientes con enfermedad renal como resultado del incremento de la resistencia vascular y la presión sanguínea lo que a su vez conduce a un incremento en los niveles de catecolaminas por reducción en el filtrado glomerular.⁷²

Existe aún controversia en relación a los niveles séricos de catecolaminas en pacientes con Diabetes mellitus y sus posibles implicaciones en la patogénesis y las complicaciones de esta enfermedad.⁷³

Se consideran valores de referencia para alfa amilasa salival de 23-85 U/mL.⁷⁴

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La DM2 es un problema de salud pública a nivel mundial, existen alrededor de 170 millones de personas que la padecen.⁷⁵ Durante los últimos años, se ha observado un incremento importante en el número de personas a las cuales se les ha diagnosticado, particularmente DM2. Su prevalencia parece estar en relación directa con el aumento en el número de personas mayores de 65 años de edad.¹⁰

La prevalencia de DM2 en individuos menores de 30 años es del 5 % y después de los 60 sube a más del 20 %. Se diagnostica tardíamente; del 30 a 50 % de las personas que tienen esta enfermedad, lo desconocen y al momento de ser diagnosticada, la prevalencia de retinopatía oscila entre 16 y 21 %, la de nefropatía entre 12 y 23 %; la de neuropatía es entre 25 y 40 %. Como enfermedad discapacitante por los daños micro y macrovasculares que se provocan en diferentes niveles del organismo, se expresan en diversas complicaciones como ceguera, daño renal o amputaciones de miembros inferiores. En México, la DM ocupa el primer lugar en número de defunciones por año. Tanto en hombres como en mujeres la tasa de mortalidad muestra una tendencia ascendente en ambos sexos.¹⁰

En la población mexicana, específicamente hablando de los derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), la prevalencia de la DM fue de 10.5 % durante 2010.⁷⁶

La DM consume entre 4.7 y 6.5 m% del presupuesto para la atención de la salud en el IMSS.⁷⁷

En el año 2009 se estimó que 40 % del gasto médico fue destinado en relación a los diagnósticos de hipertensión arterial, 36 % para Diabetes mellitus y 13 % para insuficiencia renal.⁷⁶

Renalasa es una monoamino oxidasa de reciente descubrimiento capaz de metabolizar las catecolaminas circulantes, estas últimas relacionadas con la actividad nerviosa simpática y ambas con pacientes portadores de enfermedad renal. En fases iniciales de daño renal, los niveles séricos de renalasa se encuentran elevados tal vez como respuesta al incremento en la concentración de catecolaminas en sangre; algunos autores reportan que en fase terminal de ERC, renalasa es apenas perceptible en plasma humano. El primer artículo acerca de RNLS fue publicado en 2005; en él fueron estudiados 12 sujetos estadounidenses, 4 individuos aparentemente sanos y 8 pacientes con ERCT, fue cuantificada la expresión de renalasa mediante Western blot mediante anticuerpos policlonales específicos para renalasa (Protein tech Group Inc, Chicago Ill). Los resultados mostraron en el grupo de nefrópatas, valores menores de esta hormona comparados con el grupo control.³⁸

Otros autores aseveran que en nefrópatas la hormona se encuentra en concentraciones elevadas. Mediante ELISA y el uso de anticuerpos monoclonales específicos para renalasa (ELISA USCN Life Science Inc.wuham, China) en 2011, Przybylowski, et al. incluyeron en un proyecto de investigación a 157 personas, 130 de ellas, receptores de trasplante cardíaco y ERTC y en el grupo control, 27 voluntarios sanos. Este estudio fue realizado en población china. Se pudo observar que la renalasa sérica incrementa en paralelo al estadio de ERC: **Estadio 1:** 4.57 ± 0.83 g/mL; **estadio 2:** 5.97 ± 1.79 g/mL; **estadio 3:** 7.64 ± 2.67 g/mL, **estadio 4:** 12.17 ± 4.84 g/mL y **estadio 5:** 27.69 ± 8.84 g/mL.⁴⁰

En 2012, en población polaca y mediante técnica de ELISA (USCN Life Science Inc.wuham, China) se llevó a cabo un programa para determinar renalasa plasmática en un grupo de 89 participantes, 62 de ellos receptores de trasplante renal y 27 sanos. Los autores observaron que RNLS se encuentra elevada en receptores de trasplante renal y este incremento es dependiente de la función renal la cual se deteriora con el tiempo del trasplante. (6.72 ± 2.86 μ g/mL vs 3.86 ± 0.73 μ g/mL). Adicionalmente, rena-

lasa correlacionó con función renal, edad, tiempo de trasplante, fosfato sérico y presión sanguínea.⁷⁸

Por otra parte, sAA es una enzima relacionada con la digestión de los carbohidratos que se produce en el páncreas y en las glándulas salivales; estas últimas están controladas sobre todo por señales nerviosas parasimpáticas procedentes de los núcleos salivales superior e inferior del tronco del encéfalo. La medición de la actividad de alfa amilasa en la saliva es útil en el ámbito de la psicobiología del estrés. Libre de cortisol salival se estableció un marcador no invasivo en el eje de la actividad del hipotálamo hipófisis suprarrenal (HPA). Ahora la alfa amilasa parece ser un marcador salival bien caracterizado de la actividad del sistema simpato-medular suprarrenal (SAM).⁷⁴

Por lo anterior descrito nos hemos planteado la siguiente

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen variaciones en las concentraciones de Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con y sin Diabetes mellitus tipo 2?

3. JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN

En años recientes se ha observado un incremento importante en el número de personas a las cuales se les ha diagnosticado DM2 en todo el mundo; esta enfermedad se asocia con modernos estilos de vida, malas conductas alimenticias, reducción en la actividad física y por lo tanto el sobrepeso y la obesidad.

Se ha informado en forma reciente que el glomérulo y el túbulo proximal renal sintetizan y liberan RNLS, una hormona responsable del metabolismo de las catecolaminas y muy relacionada a la ERC. Si la aplicación de renalasa recombinante fuera posible en un futuro, se podría controlar la hipertensión arterial, mejorar los niveles de hemoglobina que traducen anemia propia de nefropatía crónica; también sería posible evitar o retrasar la ERC así como las complicaciones cardiovasculares propias de enfermedad renal. RNLS podría en el futuro establecerse mediante métodos no invasivos como un marcador de bienestar renal.

La alfa amilasa salival es una enzima que en forma reciente se ha establecido como un marcador no invasivo de la actividad del sistema simpato-medular-suprarrenal (SAM) la cual está estrechamente relacionada al desarrollo de hipertensión arterial y DM2.

La ECV constituye una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en pacientes con ERC. Ha sido recientemente postulado que la reducción en la concentración de renalasa en pacientes nefrópatas, es en parte, responsable de la elevación en las concentraciones de catecolaminas plasmáticas, mismas que conducen al incremento de ECV.

La incidencia de ERC en estado terminal ha incrementado a nivel mundial y se relaciona con la presencia de factores de riesgo tradicionales como hipertensión y dis-

lipidemia y a otros factores tales como el incremento del estrés oxidativo y la calcificación arterial que juegan un papel importante en el desarrollo de ECV.⁴⁵

Renalasa sérica, alfa amilasa salival y catecolaminas podrían usarse como marcadores de hiperactividad del sistema nervioso simpático, daño renal y ofrecer alternativas en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de enfermedades crónicas con alto impacto cardiovascular.

4. HIPÓTESIS DE TRABAJO

4. HIPÓTESIS DE TRABAJO:

Las concentraciones de Renalasa sérica y alfa amilasa salival varían de acuerdo a la evolución y daño de pacientes con Diabetes mellitus tipo 2.

5. OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

Objetivo General: Evaluar las concentraciones de Renalasa sérica, Alfa amilasa salival y catecolaminas en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 en comparación de otros tres grupos.

Objetivos específicos:

1. Evaluar las concentraciones de Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 respecto de otros tres grupos.
2. Evaluar las concentraciones de Renalasa sérica y alfa amilasa salival de acuerdo al tiempo de evolución de Diabetes mellitus tipo 2.
3. Buscar correlación de Renalasa sérica y alfa amilasa salival con otras variables de estudio.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6. MATERIAL Y MÉTODOS:

Tipo de estudio: Transversal, comparativo, clínico.⁷⁹⁻⁸¹

Universo o población:

Este proyecto se realizó en un grupo con pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 del módulo de DiabetIMSS de la Unidad de Medicina Familiar N° 75; pacientes del servicio de hemodiálisis de la Unidad Médica de Atención Ambulatoria (UMAA-UMF N° 75) y sujetos sanos que acudieron como voluntarios para donar sangre al Banco de Sangre del Hospital General Regional N°1, todos del Instituto Mexicano del Seguro Social, Morelia, Michoacán. Se cuenta con la autorización de los cuerpos directivos de las Instituciones participantes.

Tamaño de muestra:

El tamaño de muestra se obtuvo con la ecuación de dos proporciones.⁸²

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

Donde:

$$Z\alpha = (\alpha= 0.05) = 1.96$$

$$Z\beta = (\beta= 0.10) = -1.645$$

Π_1 (P1) = proporción de pacientes del grupo con diabetes con concentraciones de renalasa alta= 0.80

Π_2 (P2) = proporción de pacientes del grupo sin diabetes con concentraciones de renalasa altas = 0.55

$\Pi_1 - \Pi_2$ (P1-P2) = Diferencia entre proporción de grupo con diabetes y sin diabetes, que sea clínicamente significativa.

$$N = \frac{1.96 \sqrt{2(0.8)(1-0.8)} - (-1.645) \sqrt{0.8(1-0.8) + 0.55(1-0.55)}}{(0.8 - 0.55)}^2$$

N= 74.56 Pacientes por grupo

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

CRITERIOS DE INCLUSION:

Para el grupo 1: Sujetos aparentemente sanos.

- Personas adultas.
- De género indistinto.
- Sin Diabetes mellitus ni otras enfermedades crónico-degenerativas
- Que acepten participar en el estudio.
- Que den su consentimiento informado por escrito.

Para el grupo 2: Sujetos con algún componente de Síndrome metabólico.

- Pacientes adultos.
- De género indistinto
- Presentan al menos un componente de Síndrome metabólico (ATP-III)
- Que acepten participar en el estudio.
- Que den su consentimiento informado por escrito.

Para el grupo 3: Pacientes con Diabetes mellitus tipo 2.

- Pacientes adultos.
- De género indistinto.
- Diabetes mellitus tipo 2
- Que acepten participar en el estudio.
- Que den su consentimiento informado por escrito.

Para el grupo 4: Pacientes con Enfermedad renal crónica terminal en hemodiálisis:

- Pacientes adultos.
- De género indistinto.
- Que tengan Enfermedad renal crónica terminal en tratamiento sustitutivo de función renal con hemodiálisis
- Que acepten participar en el estudio.
- Que den su consentimiento informado por escrito.

CRITERIOS DE NO INCLUSION:

Para el grupo 3: Pacientes con Diabetes mellitus tipo 2.

- Presentar disautonomía diabética
- Recibir tratamiento con betabloqueadores

Para todos los grupos:

- En relación a la recolección de muestra de saliva: Tener enfermedades inflamatorias de cavidad oral, infecciones y/o sangrado.
- Las personas que no deseen participar.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Serán excluidos aquellos sujetos que no completen las mediciones.
- Pacientes con muestras hemolisadas.

DESCRIPCIÓN OPERATIVA DE LAS VARIABLES

VARIABLES CLÍNICAS:

Definición conceptual	Definición operacional	Escala de variable	Unidades de medida
Edad	Edad cronológica	Cuantitativo	Años
Género	Sexo biológico	Cualitativo	F/M
Presión arterial	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Cuantitativo	mmHg
Frecuencia cardíaca	Número de contracciones del corazón o pulsaciones por unidad de tiempo	Cuantitativo	minuto
Obesidad	Patología caracterizada por exceso de grasa corporal determinada por un IMC ≥ 30 (k/m ²)	Cuantitativo	k/m ²
Antecedentes			
Antecedente familiar DM2	Antecedente materno o paterno en primera línea (padres, abuelos, hermanos) de DM2	Cualitativo	Si/No
Antecedente familiar HTA	Antecedente materno o paterno en primera línea (padres, abuelos, hermanos) de HTA	Cualitativo	Si/No
Años de evolución de DM2	Tiempo transcurrido entre la detección de la enfermedad y la entrevista	Cuantitativo	años
Variables antropométricas			
Peso corporal	Es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre un cuerpo determinado.	Cuantitativo	kilogramo
Talla	Distancia que existe entre el vértex y el plano de sustentación	Cuantitativo	Centímetro
Índice de Masa Corporal	Relación que existe entre el peso y la talla	Cuantitativo	k/m ²

Variables metabólicas:

Definición conceptual	Definición operacional	Escala de variable	Unidades de medida
En sangre			
Glucosa sérica	Concentración de glucosa en sangre	Cuantitativo	mg/dL
Creatinina sérica	Producto de desecho del metabolismo muscular	Cuantitativo	mg/dL
Albumina sérica	Proteína más abundante del plasma	Cuantitativo	g/dL
Ácido úrico	Producto de desecho del metabolismo nitrogenado	Cuantitativo	mg/dL
Colesterol total	Concentración de lípidos en sangre	Cuantitativo	mg/dL
Triglicéridos	Concentración de triglicéridos cuantificados en suero	Cuantitativo	mg/dL
c-HDL	Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad	Cuantitativo	mg/dL
c-LDL	Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad	Cuantitativo	mg/dL
c-VLDL	Colesterol asociado a lipoproteínas de muy baja densidad	Cuantitativo	mg/dL
Renalasa sérica	Hormona responsable del metabolismo de las catecolaminas	Cuantitativo	ng/mL
Examen general de orina	Es la evaluación física, química y microscópica de la orina.	Cuantitativo/Cualitativo	Específico para cada valor
En saliva			
Alfa amilasa salival	Enzima que evalúa la actividad del sistema simpato adrenal	Cuantitativo	U/mL

PLAN DE PROCEDIMIENTO:

Se realizó un muestreo trietápico que abarcó desde noviembre de 2013 hasta febrero de 2014 e inició en cuanto el proyecto fue autorizado por ambas instituciones participantes.

Primera etapa: Se acudió a las unidades participantes donde mediante una sesión general informativa se expusieron planeación, objetivos, criterios de selección, beneficios e inconvenientes. Se mostró la carta de consentimiento informado. Los sujetos que aceptaron participar en el proyecto, leyeron y firmaron la carta de consentimiento informado y fueron citados. Se entregó un formato con las indicaciones precisas para acudir el día de la cita; en el mismo, se detalló la fecha, lugar y hora donde se realizaría la consulta.

Segunda etapa: Programamos la consulta en el espacio de DiabetIMSS de la UMF N° 75. Ahí se realizó una historia clínica completa y se tomaron las muestras de sangre y saliva.

Mediciones clínicas de los pacientes.

A todos los pacientes se realizó somatometría, mediante una báscula con estadímetro previamente calibrada, con ropa ligera y sin zapatos; para el cálculo del índice de masa corporal (IMC) se tomaron en cuenta los criterios de la OMS, considerando peso normal a un IMC entre 18 y 24.9 m², sobrepeso a un IMC entre 25 y 29.9 m² mientras que se definió obesidad a un IMC ≥ 30 m². Se definió Hipertensión arterial de acuerdo a los criterios de The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC-VII) (cifras de presión arterial sistólica y diastólica $\geq 140/90$ mm/Hg respectivamente, o cifras menores si estaban recibiendo tratamiento antihipertensivo).^{83, 84} Para esta medición

los pacientes debieron esperar al menos 5 minutos en posición sedente, 4 horas antes o más, debieron suspender el consumo de cigarrillos, cafeína y chocolates así como otros estimulantes. Usamos un baumanómetro anerode de la marca HERGOM nuevo, exclusivo para uso en este proyecto, asegurándonos de su correcta colocación a nivel de la proyección cardiaca, con un brazalete adecuado, cubriendo las dos terceras partes del brazo y usando la fase I (aparición de los ruidos en forma clara y definida) y fase V (desaparición completa de los ruidos) de Korotkoff para identificar la PAS Y la PAD, respectivamente).^{61, 84} Para el diagnóstico de DM2 se tomó en consideración los criterios de la American Diabetes Association.¹ Todos los pacientes con DM2 habían sido diagnosticados con antelación en DiabetIMSS.

Mediciones bioquímicas generales de los pacientes.

Todos los participantes recibieron las mismas indicaciones: Acudir en ayuno de al menos 12 horas, sin aseo de cavidad oral. Suspender doce horas antes el consumo de plátano, cafeína, tabaco, alfa metil dopa. En un recipiente estéril recopilar la primera muestra de orina de la mañana, de chorro medio, preferentemente previo aseo de genitales.

En estas condiciones de ayuno, se colectaron 14 mL de sangre venosa. 3 mL en tubo sin anticoagulante (rojo) para la obtención de suero para la cuantificación de glucosa, urea, creatinina, colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL y LDL respectivamente), ácido úrico y albúmina por métodos enzimáticos en equipo de química clínica automatizado, Vitros 5.1 FS con número de serie 34001004, marca SANYO. Mediante la medición de glucosa se determinó el grado de control glucémico de los pacientes diabéticos mientras que en los no diabéticos realizamos escrutinio para establecer si se trataba de concentraciones normales de glucosa o incluso algún grado de intolerancia a la glucosa. Las concentraciones de colesterol total y triglicéridos se utilizaron para determinar

posibilidad de poseer componentes del SM mientras que las concentraciones de creatinina fueron utilizadas para estimar la TFG la cual se estimó mediante la ecuación de la Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI por sus siglas en inglés) en cada uno de los participantes independientemente del grupo al que fueron agregados.³⁴

Estas muestras y el examen general de orina, fueron procesadas en el laboratorio del Hospital General de Zona N° 83 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Morelia, Mich.

Mediciones bioquímicas para determinar actividad del SNS.

Se determinó actividad del sistema nervioso simpático mediante la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de Dopamina (DA), Adrenalina (ADR) y Noradrenalina (NA), así como, las concentraciones de renalasa sérica y la actividad de la alfa amilasa salival.

Para la colecta de la saliva al sujeto participante se citó en ayuno, sin comer, beber, mascar goma ni lavarse los dientes 30 min antes de la toma de muestra, de lo contrario se recomendó enjuagar la boca con agua fría 5 min antes de la toma de muestra. No se colectaron muestras si el paciente presentaba enfermedades orales, inflamaciones o lesiones (contaminación con sangre). La muestra se colectó en un dispositivo adecuado y la cantidad requerida fue de 0.5 mL. El traslado fue de inmediato y se colocaron las muestras en un refrigerador de marca SANYO Biomedical Freezer Modelo ALLEGRA X-22 a -80°C hasta su procesamiento. La actividad de alfa amilasa salival se determinó mediante ELISA (Ensayo Enzimático para la determinación de la actividad de alfa amilasa en saliva humana), IBL International GMBH (REF RE8011) Hamburg, Germany. Este ensayo es de fase líquida. Alfa amilasa salival metaboliza específicamente el sustrato, donde la intensidad del color producido es proporcional a la actividad de la enzima en la muestra, la cual se ensayó por duplicado. Se midió la

densidad óptica en un fotómetro a 405 nm. Los resultados de las muestras se calcularon directamente con el uso de la curva estándar.

Estas pruebas fueron realizadas en el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI) del Instituto Mexicano del Seguro Social, Morelia, Mich. en un equipo rainbow.

Se requirió además de 6 ml de sangre para la determinación de catecolaminas plasmáticas fraccionadas (DA, ADR y NA), mismas que fueron medidas por High-performance liquid chromatography (HPLC) por sus siglas en inglés, Las muestras fueron centrifugadas, separadas en alícuotas y congeladas para ser luego enviarse al Hospital General Regional N° 1 del Instituto Mexicano del Seguro Social, Charo, Mich.

En otro tubo con Ácido Etilendiamínicotetraacético (EDTA) se colectaron 5 ml de sangre para la obtención de plasma y cuantificación de renalasa. Los tubos con sangre se centrifugaron de inmediato a 2000 rpm durante 10 minutos usando una centrifugadora de marca BECKMAN COULTER. Modelo Allegra X-22R. Las muestras fueron separadas en 5 alícuotas de 0.5 cc para ser congelados a -70 °C en un refrigerador de marca SANYO Biomedical Freezer Modelo ALLEGRA X-22 a -80°C hasta su procesamiento mediante ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) en técnica de sándwich. Se utilizó un estuche comercial (Renalase (RNLS) BioAssay™ ELISA Kit (Human), United States Biological. Estas pruebas fueron realizadas en el Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI) del Instituto Mexicano del Seguro Social, Morelia, Mich.

Tercera etapa: Los resultados de laboratorio fueron vertidos en los formatos realizados exprofeso y se elaboró la base de datos correspondiente mediante el programa computacional para Windows SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 18.0.

Análisis estadístico

Los resultados se muestran en medias \pm DE. Todos los datos fueron sometidos a una prueba de normalidad utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias en las medidas de las variables continuas se analizaron con el Análisis de Varianza de una vía (ANOVA) seguidas de una prueba de Tukey como post-hoc. El análisis univariante para establecer asociación fue realizado mediante el Coeficiente de Correlación de Pearson. Las gráficas fueron realizadas con el paquete estadístico GraphPad Prism versión 5 para Windows. Se consideró de significancia estadística a un valor de $p < 0.05$ ⁸⁰

CONSIDERACIONES ÉTICAS:

Este estudio se realizó de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas, según lo definió la Conferencia Internacional sobre Armonización y de acuerdo con los principios éticos subyacentes en las disposiciones contenidas en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la salud. De acuerdo a este reglamento, este tipo de investigación está clasificada como: Investigación con riesgo mínimo. (Sección de Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos. (pag.424, Capítulo I, Artículo 17)). El protocolo en ninguno de sus procedimientos atenta contra la integridad física y moral de las personas que se involucren en él. ⁸⁵

La identidad de los pacientes se protegió durante todas las fases con la finalidad de salvaguardar el principio de confidencialidad. La estudiante de la Maestría en Ciencias de la Salud recolectó personalmente cada una de las muestras, centrifugó, separó en alícuotas y congeló parte de ellas; otras fueron remitidas al laboratorio para su procesamiento. Toda la información de los participantes fue “de novo”, no se consideraron datos de expedientes previos.

El protocolo se ajusta a los principios científicos y éticos prescritos para realizar estudios de investigación en sujetos humanos, tomando en cuenta lo contenido en la Norma Oficial Mexicana. ⁸⁶ En el presente estudio, el procedimiento que se realizó para la obtención de la muestra de sangre periférica está asociado a riesgos mínimos para el paciente.

Se respetaron las enmiendas de la Declaración de Helsinki de 1964 ⁸⁷, revisado por última vez en 2004, los principios contenidos en el Código de Núremberg ⁸⁸, el Informe Belmont ⁸⁹, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos ⁹⁰ y las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos. Ginebra 2002. ⁹¹

COMITÉ DE ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN:

Este protocolo fue aprobado por el Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 1602 del H. Gral. Regional N° 1, Michoacán del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Número de registro: **R-2013-1602-7**

Fecha: **22 de marzo de 2013.**

Aprobado por la Comisión de Bioética de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

Número de registro: **CB/2014/IV-148**

Fecha: **02 de mayo de 2014**

También se cuenta con la aprobación del Comité de Investigación de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

Número de registro: **002/P/8/2014**
2014

Fecha: **22 de septiembre de**

CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Los investigadores se aseguraron que los sujetos, o en aquellas situaciones donde los sujetos no pudieran otorgar el consentimiento, su representante legalmente aceptable, recibieran información clara y completa acerca del propósito, riesgos potenciales y asuntos críticos respecto del estudio en el cual participan de manera voluntaria. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito y libremente otorgado de cada sujeto o, en aquellas situaciones donde los sujetos no pudieran otorgar el consentimiento, de su representante legalmente aceptable, antes de su participación en este estudio, incluyendo el consentimiento informado para cualquier procedimiento por lo que debieron firmar un consentimiento informado.

7. RESULTADOS

7. RESULTADOS:

Se reclutaron 169 individuos, de los cuales se excluyeron seis por no completar las mediciones de todas las variables o por no cumplir con los criterios de inclusión, analizando finalmente a 163; estos se agruparon de la siguiente manera: **Grupo 1:** 14 sujetos sanos aparentemente (9 %); **Grupo 2:** 43 sujetos con componentes del SM según criterios de ATP-IV (26 %); **Grupo 3:** 93 pacientes con DM2 (57 %); y **Grupo 4:** 13 (8 %) pacientes con nefropatía diabética estadio V en tratamiento sustitutivo de la función renal en hemodiálisis. Todos los resultados fueron comparados en relación al grupo control sano aparente.

El cuadro I muestra los resultados de las variables clínicas de la población estudiada por grupos de estudio. En ella se observan diferencias clínica y estadísticamente significativas en el peso corporal, IMC, PAS, PAD, PAM y en los años de diagnóstico de la DM2 entre los grupos de estudio y el grupo 4.

El cuadro II muestra los resultados de las variables bioquímicas de la población estudiada por grupo de estudio. Como era de esperarse se encontró que el grupo de pacientes con ERCT secundaria a DM2 tuvo las concentraciones mayores en suero de urea y creatinina y una TFG menor que los otros tres grupos. Además se observa ya una disminución en la TFG en el grupo de pacientes con DM2 en relación al grupo sano y con componentes del SM. En los parámetros que evalúan actividad del SNS encontramos concentraciones plasmáticas mayores de DA, Adrenalina, y NA en el grupo de pacientes con ERCT en comparación a los otros tres grupos; las concentraciones de renalasa fueron menores en comparación al grupo de DM2 y con componentes del SM. También se encontraron en el grupo de pacientes con ERCT

secundario a DM2 concentraciones mayores de alfa amilasa salival; interesantemente, aunque no alcanzó diferencia estadísticamente significativa se observa una tendencia al aumento en las concentraciones de alfa amilasa salival en los pacientes con DM2 y con componentes del SM.

Cuadro I. Variables antropométricas y clínicas de la población estudiada.

Variable	Grupo 1 n=14 Sanos	Grupo 2 n=43 SM	Grupo 3 n=93 DM2	Grupo 4 n=13 ERCT
Género (M/F)	6/8	17/26	31/62	7/6
Edad (años)	47 ± 14	50 ± 10	59 ± 10**	50 ± 17
Peso (kg)	62 ± 10	75 ± 10**	73 ± 12**	69 ± 16
IMC (kg/m ²)	22.8 ± 1.9	29.9 ± 4.0*	29.8 ± 4.8*	27.8 ± 5.2***
PAS (mm/Hg)	109 ± 11	125 ± 13***	138 ± 20*	158 ± 32*
PAD (mm/Hg)	72 ± 10	82 ± 11***	85 ± 11*	99 ± 12*
PAM (mm/Hg)	84 ± 10	97 ± 11***	102 ± 13*	118 ± 17*
FC (lat/min)	65 ± 7	68 ± 11	71 ± 10	69 ± 10
Dx DM2 (años)	-----	-----	7 ± 6	17 ± 8 ^δ

Los resultados se muestran en medias ± DE; **Grupo 1**= sujetos sanos aparentemente; **Grupo 2**= Sujetos con componentes del Síndrome metabólico; **Grupo 3**= Grupo con diabetes mellitus tipo 2; **grupo 4**= Pacientes con Enfermedad renal crónica terminal en hemodiálisis.

IMC= Índice de masa corporal; PAS= Presión arterial sistólica; PAD= Presión arterial diastólica; PAM= Presión arterial media; FC= frecuencia cardiaca; Dx DM2= Años diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.

*p<0.0001; ** p<0.01; ***p<0.05; Grupo 2,3 y 4 vs grupo 1. ^δ p<0.0001 Gpo. Con DM2 sin evidencia clínica de daño renal vs pacientes con nefropatía diabética estadio V en hemodiálisis.

Cuadro II. Variables bioquímicas de la población estudiada.

Variable	Grupo 1 n=14 Sanos	Grupo 2 n=43 SM	Grupo 3 n=93 DM2	Grupo 4 n=13 ERCT
Glucosa (mg/dL)	86.2 ± 8.3	92.7 ± 10.7	125.7 ± 40.3*	97.5 ± 21.8
Urea (mg/dL)	28.7 ± 7.7	29.9 ± 8.0	35.9 ± 13.5	134.3 ± 15.6*
Cr (mg/dL)	0.77 ± 0.19	0.82 ± 0.14	0.92 ± 0.28	8.92 ± 2.74*
TFG (ml/min/m ² SC)	100.0 ± 15.9	93.7 ± 14.0	78.8 ± 17.5*	5.6 ± 1.5*
CT (mg/dL)	165.7 ± 32.8	175.2 ± 34.2	167.1 ± 42.4	146.7 ± 31.2
TG(mg/dL)	118.7 ± 51.8	183.2 ± 76.7***	171.4 ± 76.7***	167.3 ± 39.2

Variables bioquímicas que evalúan actividad del SNS.

DA (pg/mL)	14.7 ± 7.6	17.6 ± 10.5	22.6 ± 17.1	51.0 ± 21.9*
Adrenalina (pg/mL)	15.3 ± 6.2	16.9 ± 13.2	20.2 ± 11.6	66.3 ± 39.2*
NA (pg/mL)	75.3 ± 38.4	99.7 ± 68.8	131.8 ± 98.2	306.9 ± 132.9*
Renalasa (ng/mL)	10.4 ± 2.4	15.4 ± 3.9***	16.3 ± 4.9**	9.2 ± 2.7
Alfa amilasa salival (U/mL)	8.0 ± 5.0	17.2 ± 21.2	27.3 ± 27.5	42.5 ± 28.7***

Los resultados se muestran en medias ± DE; **Grupo 1**= sujetos sanos aparentemente; **Grupo 2**= Sujetos con componentes del Síndrome metabólico; **Grupo 3**= Grupo con diabetes mellitus tipo 2; **Grupo 4**= Pacientes con Enfermedad renal crónica terminal en hemodiálisis.

TFG= Tasa de filtrado glomerular; CT= Colesterol total; TG= Triglicéridos; SNS= Sistema nervioso simpático; DA= Dopamina; NA= Noradrenalina.

*p<0.0001; ** p<0.01; ***p<0.05

El cuadro III muestra los resultados de las variables antropométricas y clínicas del grupo 3 (pacientes con DM2) de acuerdo al tiempo de diagnóstico de la enfermedad (<10 años y ≥10 años). Se observa diferencias en el IMC, siendo mayor en el grupo de pacientes con DM2 con menos de 10 años de diagnóstico ($p < 0.01$), así como en las cifras de PAS, PAD y PAM, mayores en el grupo de pacientes con diabetes con más años de diagnóstico ($p < 0.01$).

Cuadro III. Variables antropométricas y clínicas del grupo de diabetes mellitus tipo 2.

Variable	DM2 <10 años	DM2 ≥ 10 años
Género (M/F)	47/18	21/20
Edad (años)	57 ± 9	59 ± 15
Peso (kg)	74 ± 9	70 ± 14
IMC (kg/m ²)	30.6 ± 5.0	27.8 ± 4.2**
PAS (mm/Hg)	135 ± 20	149 ± 25**
PAD (mm/Hg)	83 ± 12	90 ± 12**
PAM (mm/Hg)	101 ± 14	110 ± 14**
FC (lat/min)	71 ± 10	69 ± 8

Los resultados se muestran en medias ± DE; IMC= Índice de masa corporal; PAS= Presión arterial sistólica; PAD= Presión arterial diastólica; PAM= Presión arterial media; FC= frecuencia cardiaca; Dx DM2= Años diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2.

* $p < 0.01$; diabéticos con ≥10 años de diagnóstico DM2 vs diabéticos con <10 años de diagnóstico de la DM2.

El cuadro IV muestra los resultados de las variables bioquímicas del grupo 3 (pacientes con DM2) de acuerdo al tiempo de diagnóstico de la enfermedad (<10 años y ≥10 años). Se observan concentraciones mayores de la urea y la creatinina en los pacientes con ≥10 años de diagnóstico de la DM2 ($p < 0.0001$). También se observan concentraciones plasmáticas de DA, A y NA mayores ($p < 0.01$) y menores de renalasa ($p < 0.05$) en los pacientes con ≥10 años de diagnóstico de la diabetes. No hubo diferencias en las concentraciones de alfa amilasa salival.

Cuadro IV. Variables bioquímicas del grupo de diabetes mellitus tipo 2.

Variable	DM2 <10 años	DM2 ≥ 10 años
Glucosa (mg/dL)	123.6 ± 40.9	120.0 ± 37.7
Urea (mg/dL)	33.3 ± 9.1	71.1 ± 47.1*
Creatinina (mg/dL)	.87 ± .15	3.54 ± 4.02*
TFG (ml/min/m ² SC)	81.5 ± 15.9	51.2 ± 35.3*
Colesterol total (mg/dL)	173.8 ± 41.4	150.2 ± 38.3
Triglicéridos (mg/dL)	180.5 ± 75.2	155.6 ± 76.2
<u>Variables bioquímicas que evalúan actividad del SNS.</u>		
Dopamina (pg/mL)	23.3 ± 18.4	34.4 ± 23.1***
Adrenalina (pg/mL)	20.6 ± 11.6	41.1 ± **
Noradrenalina (pg/mL)	131.5 ± 105.5	213.7 ± 135.7**
Renalasa (ng/mL)	16.1 ± 4.3	13.4 ± 4.8***
Alfa amilasa salival (U/mL)	28.0 ± 27.7	33.7 ± 29.3

Los resultados se muestran en medias ± DE; TFG= Tasa de filtrado glomerular.

* $p < 0.0001$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.05$

El cuadro V muestra el análisis univariante de la renalasa sérica y la alfa amilasa salival con el resto de las variables analizadas. En ella se observa una correlación inversa entre la renalasa sérica con la presión arterial, la urea, la creatinina en suero y las catecolaminas plasmáticas; y correlación positiva entre la FC y la TFG; mientras que la alfa amilasa salival tuvo una correlación inversa solo con la TFG y una positiva con la presión arterial, los años de diagnóstico de la DM2, la urea, y la creatinina en suero y con las concentraciones de catecolaminas en plasma.

Cuadro V. Correlación entre renalasa sérica y alfa amilasa salival con las variables estudiadas.

Variable	Renalasa		Alfa amilasa salival	
	<i>r de Pearson</i>	<i>p</i>	<i>r de Pearson</i>	<i>p</i>
Edad	.027	0.808	.238	0.031
Peso	.069	0.538	.015	0.890
IMC	.156	0.166	.118	0.293
PAS	-.227	0.042	.277	0.012
PAD	-.301	0.007	.256	0.020
PAM	-.281	0.001	.283	0.010
FC	.298	0.007	.186	0.094
Dx de DM2	-.179	0.109	.238	0.031
Glucosa	.369	0.001	.106	0.343
Urea	-.432	<0.0001	.289	0.009
Creatinina	-.434	<0.0001	.265	0.016
Colesterol total	-.061	0.590	-.173	0.120
Triglicéridos	-.164	0.144	.112	0.316
TFG	.275	0.013	-.358	0.001
Dopamina	-.229	0.040	.497	<0.0001
Adrenalina	-.264	0.018	.391	<0.0001
Noradrenalina	-.335	0.002	.500	<0.0001

IMC= Índice de masa corporal; PAS= Presión arterial sistólica; PAD= Presión arterial diastólica; PAM= Presión arterial media; FC= Frecuencia cardiaca; TFG= Tasa de Filtración Glomerular.

Otras correlaciones importantes fueron los **años de diagnóstico de la diabetes** con la PAS ($r= .472$, $p<0.0001$), la PAD ($r=.324$, $p<0.0001$), la PAM ($r=.421$, $P<0.0001$), la dopamina ($r=.263$, $p=0.005$), adrenalina ($r=.308$, $p=0.001$) y noradrenalina ($r=.361$, $p<0.0001$) plasmáticas, con la alfa amilasa salival ($r= -.238$, $p=0.34$) y con la TFG ($r=-.650$, $p<0.0001$); **DA** ($r=.245$, $p=0.009$), Adrenalina ($r=.313$, $p=0.001$) y NA ($r= .342$, $p<0.0001$) correlacionó con la PAM respectivamente. También se observó una correlación inversa entre la **TFG** con la dopamina ($r=-.507$, $p<0.0001$), la adrenalina ($r=-.603$, $p<0.0001$) y la noradrenalina ($r=-.501$, $p<0.0001$).

Finalmente, las Figuras 1, 2 y 3 muestran las correlaciones más importantes entre la renalasa sérica, la alfa amilasa salival y los años de diagnóstico de la DM2, la PAM, catecolaminas en plasma y la función renal en la muestra total.

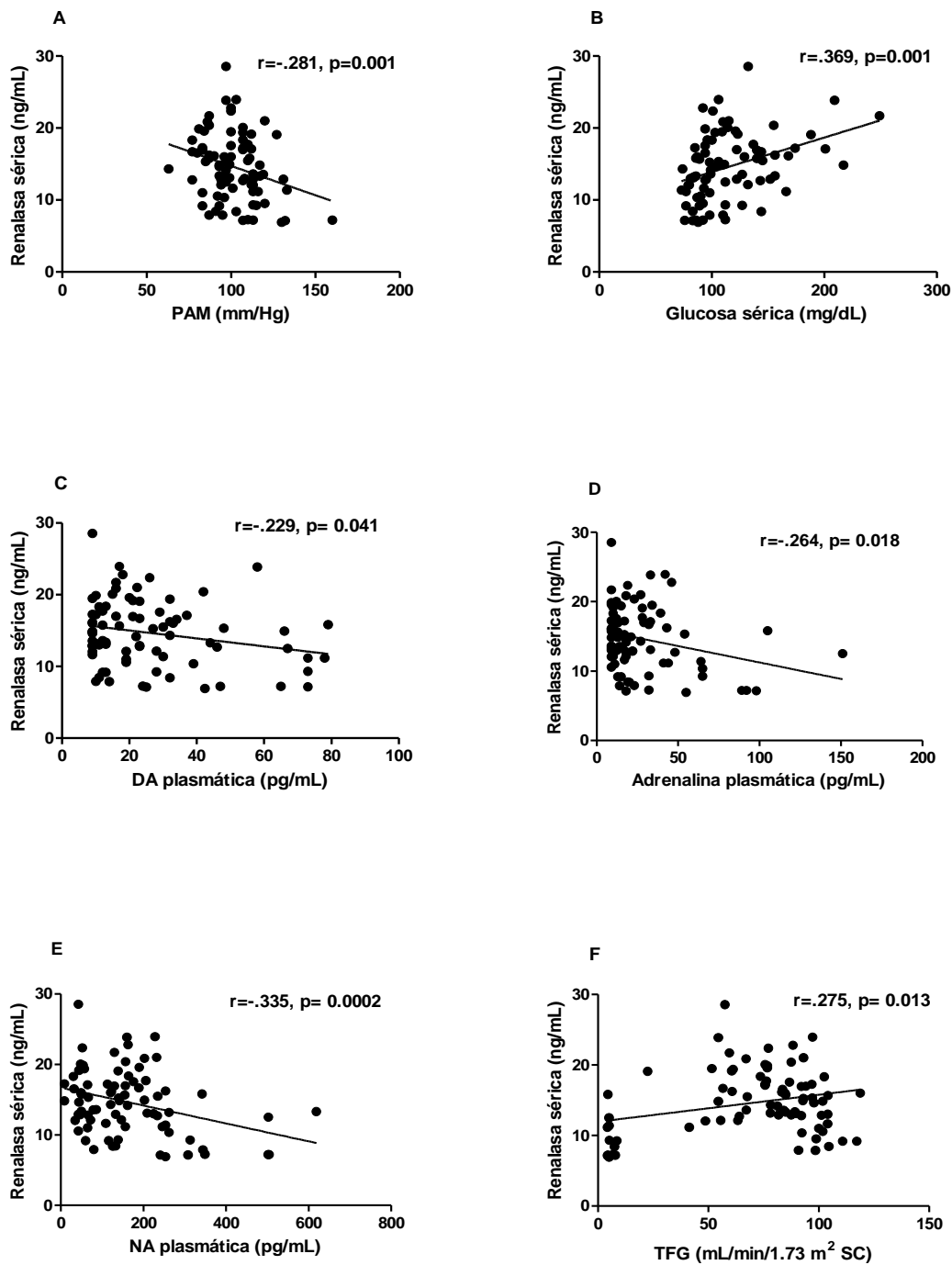


Figura 1. Correlaciones entre la renalasa en suero con otros parámetros. A) Correlación entre renalasa y la presión arterial media; B) Correlación entre renalasa y glucosa sérica; C) Correlación entre renalasa y dopamina en plasma; D) Correlación entre renalasa y adrenalina en plasma; E) Correlación entre renalasa y Noradrenalina en plasma; F) Correlación entre la renalasa y la tasa de filtración glomerular.

PAM= Presión arterial media; DA= Dopamina; NA= Noradrenalina; TFG= Tasa de filtración glomerular.

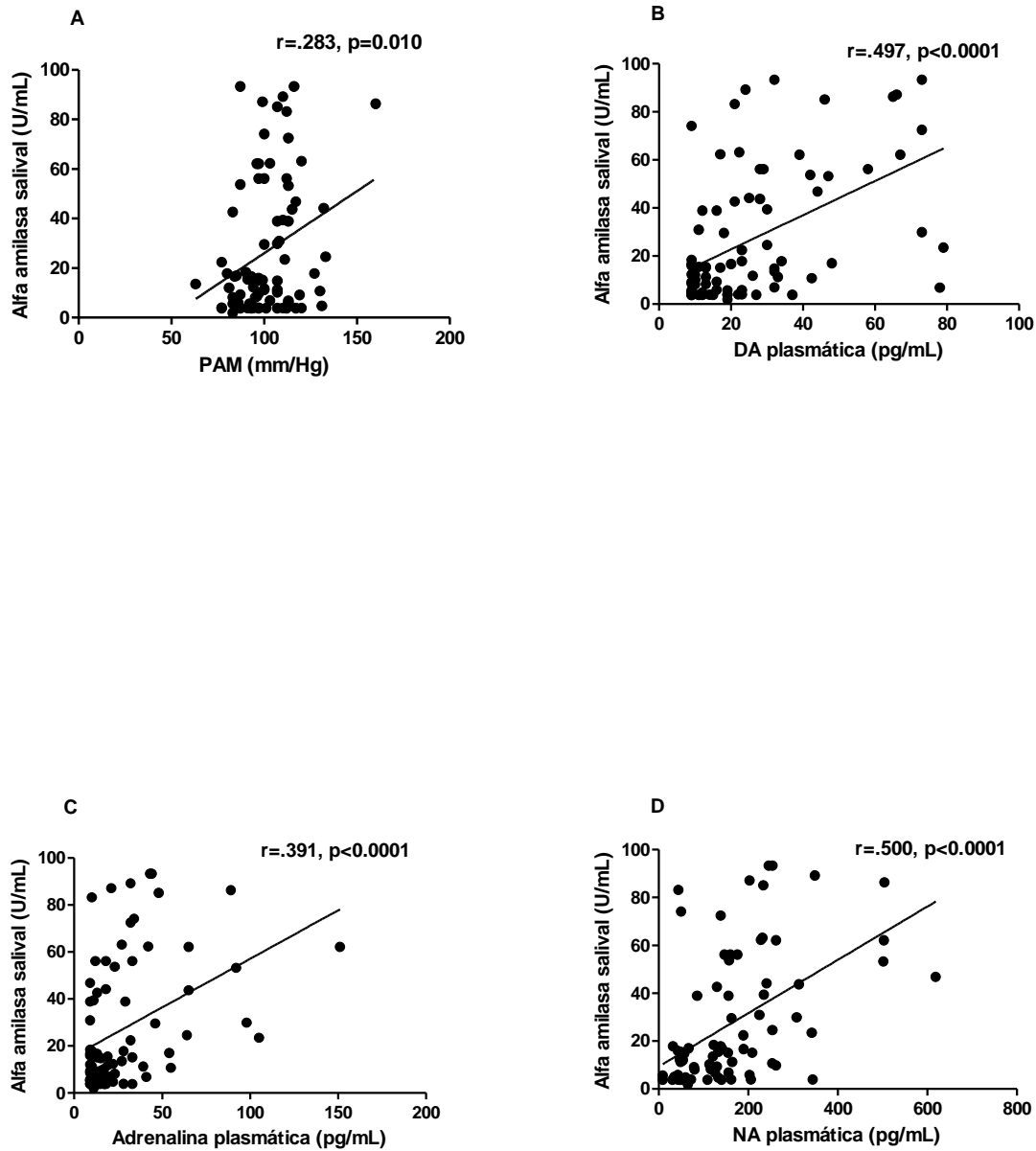


Figura 2. Correlaciones entre la alfa amilasa salival y otras variables. A) Correlación entre la alfa amilasa salival con la presión arterial media; B) Correlación entre la alfa amilasa salival y la dopamina en plasma; C) Correlación entre la alfa amilasa salival y la adrenalina en plasma; D) Correlación entre la alfa amilasa salival y la noradrenalina en plasma.

PAM= Presión arterial media; DA= Dopamina; NA= Noradrenalina.

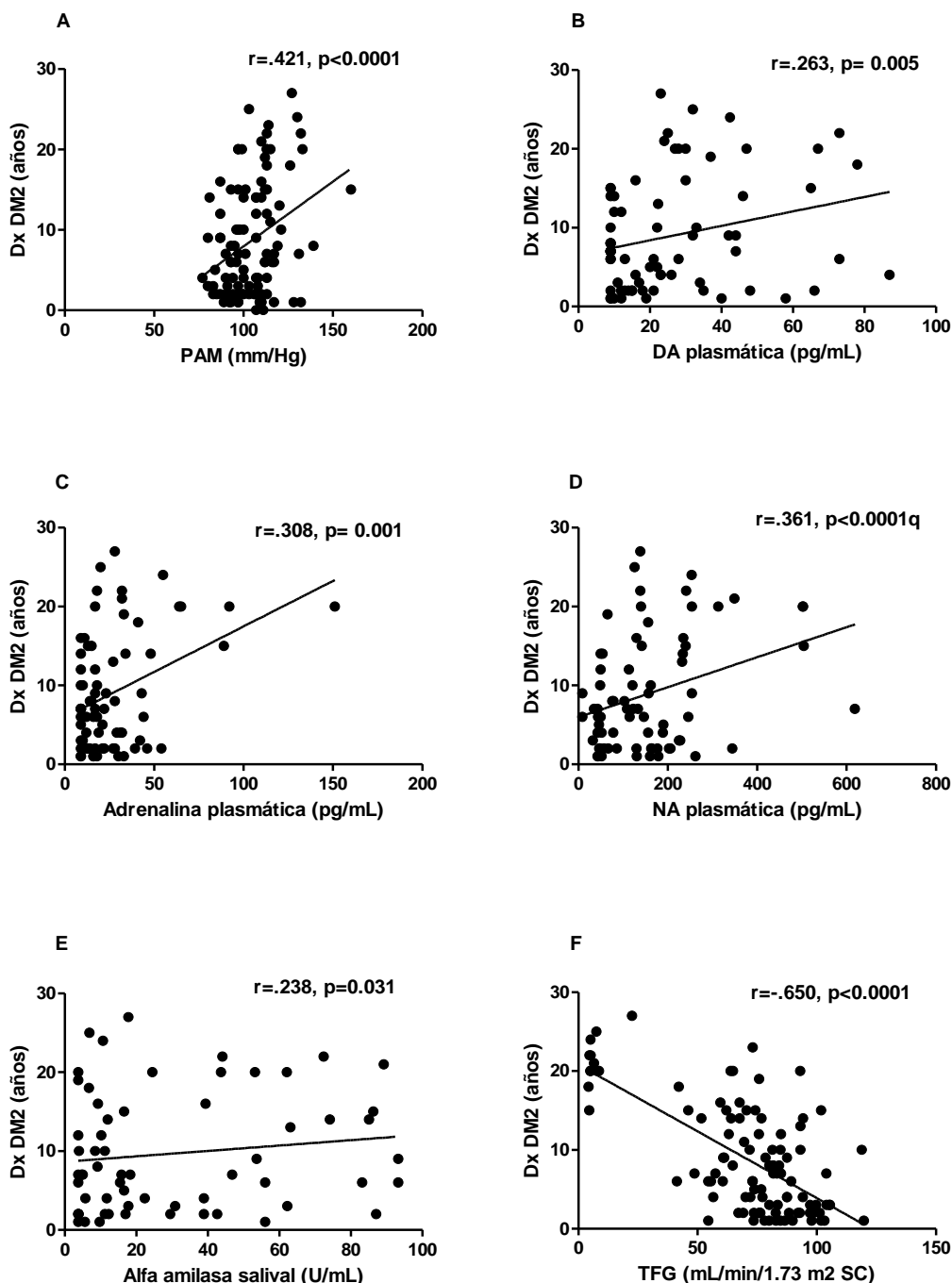


Figura 3. Correlaciones entre los años de diagnóstico de la diabetes con otras variables. A) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la presión arterial media; B) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la dopamina en plasma; C) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la adrenalina en plasma; D) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la noradrenalina en plasma; E) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la alfa amilasa salival; F) Correlación entre los años de diagnóstico de la diabetes y la tasa de filtración glomerular.

PAM= Presión arterial media; DA= Dopamina; NA= Noradrenalina; TFG= Tasa de filtración glomerular.

8.DISCUSIÓN

8. DISCUSION:

La hiperactividad del SNS tiene importantes efectos en varias enfermedades tales como la HTA.⁹²⁻⁹⁵ La patogénesis de la DM2 no está completamente establecida e involucra adaptaciones complejas a ingestas altas de alimentos e inactividad de manera crónica.⁹⁶

El SNS tiene importantes implicaciones en la regulación del balance de energía a corto y a largo plazo y por ello, también se le ha relacionado en la patogénesis de la DM2.⁹⁷ Sin embargo, aún existe debate en el inicio del proceso patogénico: si la hiperactividad del SNS es un factor patogénico en el desarrollo de la DM2, o si, por lo contrario, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia crónica lleva a alteración en la función del SNS.

Por otro lado, recientemente se ha relacionado a la RNLS como una hormona metabolizante de catecolaminas en orden DA, adrenalina y NA respectivamente.⁹⁸

También existen estudios donde han medido la actividad de la alfa amilasa salival como un marcador de actividad del SNS.^{99,100} En nuestro estudio, en las variables que miden actividad simpática encontramos un aumento en las concentraciones plasmáticas de DA, adrenalina y NA en los pacientes con ERCT en hemodiálisis y solo una tendencia en el aumento en el grupo con componentes del SM y con DM2 en comparación al grupo sano; igual tendencia se observó en la actividad de la alfa-amilasa salival; sin embargo si hubo un aumento en las concentraciones séricas de renalasa en el grupo de sujetos con componentes del SM y en los pacientes con DM2, mientras que los pacientes con ERCT sus valores fueron muy parecidos a los observados en el grupo de sujetos sanos. También hubo diferencia significativa en los valores en el peso corporal, IMC, PAS, PAD, y PAM. Estas diferencias fueron más evidentes cuando se comparó el grupo de pacientes con DM2 en base a los años de diagnóstico de la diabetes (<10 años vs ≥10 años). De hecho hubo una diferencia significativa en las concentraciones plasmáticas de DA, A y NA en los pacientes con DM2 de ≥10 años de diagnóstico.

Desde nuestro punto de vista, estos resultados sustentan lo reportado en estudios previos que asocian un aumento de la actividad del SNS en los sujetos con HTA¹⁰¹⁻¹⁰³ También sugiere que el aumento en las catecolaminas en los pacientes con DM2 con ≥ 10 años de diagnóstico fue a expensas de los pacientes con nefropatía diabética en etapa terminal prevalentes en hemodiálisis. Al respecto existen muchos reportes en la literatura que avalan hiperactividad del SNS en los pacientes con ERC ^{104,105} y sustentan porque a la diabetes y a la ERC se les considera factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular (ECV).²⁸

El hecho de encontrar valores más altos de renalasa sérica en los sujetos con componentes del SM y en los pacientes con DM2 e igual valores en el grupo de sujetos sanos que en los pacientes con ERCT en hemodiálisis hace evidente el papel importante que tiene la renalasa como hormona metabolizante de catecolaminas en mantener concentraciones normales de catecolaminas en plasma. Por otro lado, en relación a los valores de renalasa en los pacientes con ERCT iguales a los encontrados en los sujetos sanos pero con valores controversiales en relación a otros estudios con poblaciones diferentes como lo reportado por Maliszko, et al. al estudiar a 34 pacientes polacos con ERC y tratamiento sustitutivo de la función renal en hemodiálisis a quienes se midió la concentración de renalasa mediante ELISA (USCN Life Science Inc Wuham, China) encontrando valores superiores en relación al grupo control conformado por 22 participantes (17.51 ± 0.73 vs 3.99 ± 1.73 $\mu\text{g/mL}$). Las causas de daño renal fueron glomerulonefritis (n=9), nefropatía diabética (n=10), nefropatía hipertensiva (n=6), otros y causas desconocida (n=9).⁵⁹ Resultados similares fueron los mostrados por el trabajo de Zbroch en 2012 en población polaca, con 131 sujetos (104 nefropatas en hemodiálisis y 27 controles sanos). La media y DE de renalasa fue de 27.53 ± 7.18 vs 3.86 ± 0.73 respectivamente, usando un kit del mismo laboratorio que Maliszko y cols. (ELISA USCN Life Science Inc Wuham, China).

37

En mayo de 2013 se publicó por Eman W Gaber, et al. un trabajo en 80 sujetos. El primer grupo conformado por 10 controles sanos, el segundo por 60 pacientes con DM2 y el tercero con 10 pacientes con DM2 y ERCT en hemodiálisis. Todos los participantes eran de Egipto. Se determinó la cuantificación de renalasa mediante Hu ELISA Kit (USNC Life Science Inc) E92845. Los resultados mostraron valores superiores en el grupo 2 y aún mayores en los pacientes del tercer grupo (DM2 y ERCT en hemodiálisis) **Grupo 1:** 6.0 ± 2.9 ng/mL; **Grupo 2:** 10.0 ± 7.6 ng/mL; **Grupo 3:** 28.9 ± 18.8 ng/mL.⁷³

En relación a nuestros resultados que coinciden con los aportados por el trabajo de Xu, et al en 2005³⁸ que muestran concentraciones mayores de renalasa en sujetos sanos y menores en pacientes con ERC, tenemos algunas explicaciones. En primer lugar nos hace evidente lo importante que es el preservar la función renal residual en los pacientes con ERC en tratamiento sustitutivo de la función renal ya que como es conocido los riñones no solo tienen funciones básicas de filtración, absorción, secreción y eliminación sino que también tiene funciones endócrinas importantes¹⁰⁶⁻¹⁰⁷

El grupo de pacientes con ERCT en hemodiálisis estudiado por nosotros se encontraban en anuria; las características en cuanto a función renal en los otros estudios no la refieren y explican un aumento en la renalasa en esos pacientes sobre todo por una producción de renalasa compensatorio extra renal, o por una disminución en la depuración renal de la hormona. De hecho en nuestra población aún sana las concentraciones séricas de renalasa fueron mayores que lo reportado en población sana de diferentes grupos poblacionales. Las posibles explicaciones a estos resultados las atribuimos al menos a dos situaciones. Primero, posibles diferencias en la metodología utilizada para medir las concentraciones séricas de renalasa o Segundo, a diferencias poblacionales ya que desde nuestro conocimiento este es el primer estudio que mide renalasa en población mexicana con un predominio de la raza mestiza. En la población mexicana la mestiza comprende el 80 % del total, el 20 %

corresponde a grupos de indios mexicanos y un grupo reducido a población blanca formado por inmigrantes europeos. Un mestizo mexicano ha sido definido por el Instituto Nacional de Antropología como una persona que ha nacido en el país como resultado de un español y una familia de ancestros mexicanos de al menos tres generaciones,¹⁰⁸ aunque se requieren de más estudios con la misma y con diferente metodología para confirmar esta asociación

Nosotros también encontramos un aumento en las concentraciones de RNLS en el grupo de sujetos con componentes del SM y una tendencia al aumento en la actividad de la alfa amilasa salival así como correlaciones entre la renalasa sérica, la actividad de la alfa amilasa salival, y los años de diagnóstico de la diabetes, con la presión arterial, y las catecolaminas plasmáticas. Este hecho es interesante ya que como mencionamos previamente se ha demostrado un aumento en la actividad del SNS en sujetos con SM de hecho al SM se le considera como una enfermedad del SNS.¹⁰⁹ Lo anterior sugiere que desde estadios tempranos de las alteraciones metabólicas que preceden a la diabetes clínica como son la obesidad, el SM, y la HTA, son alteraciones donde ya existe hiperactividad del SNS y eso nos justificaría el incremento compensatorio en los valores de renalasa encontrados en nuestra población con componentes del SM y DM2 o bien un término no acuñado aún en la literatura mundial y que sería de “**resistencia a renalasa**”; evidentemente se requieren de más estudios y con metodología diferente para confirmar o descartar esta aseveración; aunque en nuestro estudio se tuvo cuidado importante en no incluir a pacientes con DM2 que tuvieran manifestaciones clínicas de una disautonomía diabética.

Este estudio también nos hace evidente la evolución inexorable que sigue la historia natural de la DM2 en cuanto al desarrollo de complicaciones crónicas como es la nefropatía diabética por lo que otro aspecto a estudiar a renalasa sería en individuos con diferentes estadios de función renal, aunque recientemente fue publicado un estudio que refiere que los niveles séricos de renalasa se relacionan con los niveles totales de catecolaminas y la función renal.¹¹⁰

Finalmente el haber encontrado una correlación positiva entre la actividad de sAA con las concentraciones plasmáticas de catecolaminas y con los años de diagnóstico de la diabetes también apoyan por un lado el utilizar la medición de la actividad de sAA como un marcador no invasivo de actividad simpática, en población con DM2 con y sin complicaciones crónicas del tipo de la ERC. Esta también es un área que requiere de más estudios para establecer la utilidad de la medición en saliva de la alfa amilasa en saliva sobre todo en población con ERCT por la asociación tan importante que tiene la ERC con el desarrollo de EVC.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. Una de ellas es el número de sujetos estudiados por lo que se deberá diseñar estudios con igual y de diferente metodología pero con un número mayor de sujetos. Otra limitación es el no haber medido sensibilidad a la insulina por lo menos en los sujetos con componentes del SM; aunque a la HTA¹¹¹ y a la obesidad¹¹² se le consideran estados de resistencia a la insulina. Otra limitación es el haber determinado solo las concentraciones séricas de renalasa y no las concentraciones de renalasa en orina ya que como se mencionó anteriormente, la renalasa urinaria aunque se encuentra en concentraciones menores que las encontradas en suero, es hasta 100 veces más activa que la renalasa sérica⁴²

Una justificación es la limitación de recursos y otra es el hecho de que los pacientes con ERCT en hemodiálisis estudiados en el presente estudio se encontraban en anuria.

Recientemente ha sido publicado un artículo en el que se reporta que el uso de estuches comerciales para ELISA USCN Life China han reportado resultados opuestos al trabajo inicial de Desir GV y cols, (descubridores de renalasa); es decir, en pacientes con ERCT las concentraciones de renalasa se encuentran marcadamente incrementadas. Estos diferentes resultados basados en Western blot y ELISA necesitan ser explorados extensamente y analizar las interpretaciones corres-

pondientes ya que los dos anticuerpos usados en el estuche comercial para ELISA en sándwich (Uscn Life) no han sido validados.⁴¹

9.CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES:

1. Las concentraciones más altas de **renalasa sérica** en las poblaciones estudiadas se encontraron en el grupo 3 (pacientes con DM2; en contraparte, las concentraciones menores se observaron en el grupo 4 (pacientes con ERCT).

En relación a **alfa amilasa salival**, las concentraciones mayores se registraron en el grupo 4 (ERCT) y en el grupo 1 (Control o personas sanas) se observaron las concentraciones más bajas.

2. En el grupo 3 (pacientes con DM2) **renalasa** mostró las concentraciones más altas en aquellos pacientes con menos de 10 años de evolución en comparación a los que tenían más de 10 años con el diagnóstico de esta enfermedad.

En cuanto a **Alfa amilasa salival**, se registraron concentraciones mayores en aquellos pacientes con más de 10 años de evolución, respecto a los que tenían menos años padeciendo DM2.

3. **Renalasa** correlacionó en forma positiva con TFG, con Glucosa, y de manera negativa con PAS, PAD, Creatinina, Dopamina, Adrenalina y con Noradrenalina.

Alfa amilasa salival correlacionó positivamente con PAS, PAD, años de diagnóstico de DM2, creatinina, Dopamina, Adrenalina, Noradrenalina. Alfa amilasa salival correlacionó negativamente con TFG.

Nuestros resultados sustentan un aumento en la actividad en el SNS en los pacientes con DM2 y que esta actividad es dependiente del tiempo de diagnóstico. De hecho, confirma también que desde estadios previos y asociados con factores de riesgo para DM2 como son el SM hay una relación directa con la actividad del SNS. La actividad del SNS medida por la actividad de la alfa amilasa en saliva puede ser un marcador útil no invasivo en esta población y probablemente en los pacientes con ERC en etapa terminal. Encontramos concentraciones diferentes de renalasa en población mexicana que pueden sugerir diferencias metodológicas, poblacionales o bien un estado de resistencia a renalasa.

10. SUGERENCIAS

10.SUGERENCIAS:

Realizar estudios prospectivos donde se analicen si las concentraciones de renalasa se relaciona con el consumo de sal (cloruro de sodio), analizar la influencia genética poblacional en las concentraciones de esta hormona, vías de señalización y estudios donde se evalúe el efecto terapéutico de la renalasa en algunas patologías relacionadas tales como la DM2, ERCT y sus complicaciones cardiovasculares.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ADA 2015. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes- 2015: Summary of Revisions. *Diabetes Care* 2015;38 (1): S1-S93
2. ESC/EASD 2014. Guía de práctica clínica de la ESC sobre diabetes, prediabetes y enfermedad cardiovascular, en colaboración con la European Association for the Study of Diabetes. 2014.
3. Mazzone T. Prevention of macrovascular disease in patients with diabetes mellitus. Opportunities for intervention. *American Journal of Medicine*. 2007. 120: S26-S32.
4. Kannel VB. Elevated systolic blood pressure as a cardiovascular risk factor. *American Journal of Cardiology*. 2002; 85: 251-255.
5. Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, hypertension and cardiovascular disease. An update. *Hypertension*. 2001. 37: 1053-1059.
6. Derosa G, Salvadeo S, Cicero AF. Recommendations for the treatment of hypertension in patients with DM: Critical evaluation based on clinical trials. *Current clinical Pharmacology*. 2006; 1: 21-33.
7. Aronow WS. Hypertension and the older diabetic. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2008; 24: 489-501.
8. Wong WT, Wong SL, Tian XY, Huang Y. Endotelial dysfunction: The common consequence in diabetes and hypertension. *Cardiovascular Pharmacology*. 2010; 55: 300-307.
9. Buraczynska M, Zukowski P, Buraczynska K, Mozul S, Ksiazek A. Renalase Gene Polymorphism in Patients With Type 2 Diabetes, Hypertension and Stroke. *Neuromol Med*. 2011; 13: 321-327.
10. Gil-Velázquez LE, Sil-Acosta MJ, Aguilar-Sánchez L, Echevarría-Zuno S, Michaus-Romero F, Torres-Arreola LP. Perspectiva de la diabetes mellitus tipo 2 en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2013; 51 (1): 58-67.

11. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, Heine RJ, Henry RR, Pratley R. Impaired Fasting glucosa and impaired glucosa tolerance: implications for care. *Diabetes Care*. 2007; 30:753-759.
12. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005; 365:1415-1428.
13. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001; 414:782-787.
14. Zimmet P, Alberti G, Shaw JE. Mainstreaming the metabolic syndrome: a definitive definition. Editorial. *Med J Aust*. 2005; 183: 175-176.
15. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37:1595-1607.
16. Adult Treatment Panel III. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults *JAMA*. 2001; 285:2486-2492.
17. IDF 2005. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. International Diabetes Federation. Promoting diabetes care, prevention and a cure worldwide. 2006; 1-7.
18. Alberti KGM.M, Zimmet PZ, Shaw JE. The metabolic syndrome: a new worldwide definition from the International Diabetes Federation consensus. *Lancet*. 2005; 366:1059-1062.
19. WHO 1999. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Geneva: WHO 1999.
20. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med*. 1999; 16:442-443.

21. AHA/ACC. Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll cardiol.* 2014; 25: 2889-2934.
22. Alcocer L. Las nuevas guías ACC/AHA/NHLBI 2013 (ATP-IV): Un cambio radical en el manejo del riesgo cardiovascular. *The Journal of Interventions in Clinical Practice.* 2014; 1-8.
23. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh H, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Knoyan GE. Definición y clasificación de la enfermedad renal crónica: Propuesta de la KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes). *Kidney International (Edición español).* 2005; 1: 135-146.
24. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (Supply 1): S1-S266.
25. Ávila-Saldivar MN, Enfermedad renal crónica: prevención y detección temprana en el primer nivel de atención. *Med Int Mex.* 2013; 29: 148-153
26. Coresh J, Astor B, Sarnak MJ. Evidence for increased cardiovascular disease risk in patients with chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004; 13: 73-81.
27. Rahman M, Pressel S, Davis BR, Nwachuku C, Wright JT Jr, Whelton PK y cols. ALLHAT Collaborative Research Group. Cardiovascular Outcomes in high-risk hypertensive patients stratified by baseline glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006; 124-133.
28. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm JJ, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 108:2154-2169.
29. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 2034-2047.

30. Shlipak MG, Heidenreich PA, Noguchi H, Chertow GM, Browner WS, McClellan MB. Association of renal insufficiency with treatment and outcomes after myocardial infarction in elderly patients. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 555-562
31. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak M. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1998; 32: 112-119.
32. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Eng J Med.* 1998; 339: 799-805.
33. Malyszko J, Malyszko JS, Mikhailidis DP, Rysz J, Zorawski M, Banach M. Hypertension and kidney disease: is renalasa a new player or an innocent bystander? *Journal of Hypertension.* 2012; 30 (3): 457-462.
34. Montañés-Bermudez J, Bover-Sanuán J, Oliver-Samper A, Ballarín-Castán J.A., Grácia-García S. Valoración de la nueva ecuación CKD-EPI para la estimación del filtrado glomerular. *Nefrología* 2010; 30 (2): 185-194.
35. Islas AS, Vázquez B. Nefropatía diabética. En: Islas SA, Revilla MC. *Diabetes mellitus: actualizaciones.* Primera edición. Editorial Alfil. 2013; 267-279.
36. Zbroch E, Matyszko J, Zórawski M., Mysliwiec M. Kidney and hypertension: is there a place for renalase? *Pol. Arch Med Wewn.* 2012; 122 (4): 174-179.
37. Zbroch E, Malyszko J, Malyszko J, Koc-Zorawska E. Renalase, a Novel Enzyme Involved in Blood Pressure Regulation, Is Related to Kidney Function but Not Blood Pressure in Hemodialysis Patients. *Kidney Blood Press.* 2012; 35: 395-399.
38. Xu J, Li G. et al. Renalase is a novel, soluble monoamine oxidase that regulates cardiac function and blood pressure. *Journal of Clinical Investigation.* 2005; 115:1275-1280.
39. Wagner-Grau P. La renalasa, una nueva hormona secretada por el riñón. *Anemia revista.* 2008; 1: 1-13.

40. Przybylowski P, Malyszko J, Kozłowska S, Malyszko J, Koc-Zorawska E, Mysliwiec M. Serum renalase depends on kidney function but not on blood pressure in heart transplant recipients. *Transplantation proceedings*. 2011; 43 (10): 3888-3891.
41. Desir GV, Peixoto AJ. Renalase in hypertension and kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2014; 29: 22-28.
42. Li G, Xu J, Wang P, Velazquez H, Li Y, Wu Y, et al. Catecholamines regulate the activity, secretion, and synthesis of renalase. *Circulation*. 2008; 117:1277-1282.
43. Quelhas-Santos J. Is renalasa a new regulator of adrenal dopaminergic activity? *Port J Nephrol Hypert*. 2014; 28 (1): 31-39.
44. Desir GV, MD; LieQi Tang, MD; Peili Wang, MD; Guoyong Li, PhD; Benedita Sampaio-Maia, PhD; Janete Quelhas-Santos, PhD; Manuel Pestana, MD; Heino Velazquez, PhD. Renalase Lowers Ambulatory Blood Pressure by Metabolizing Circulating Adrenaline. *J Am Heart Assoc*. 2012; 1: 1-9.
45. Boomsa F, Tipton KF. Renalase, a catecholamine-metabolising enzyme? *J Neural Transm*. 2007; 114: 775-776.
46. Beaupre BA, Carmichael BR, Hoag MR, Shah DD, Moran GR. Renalase Is an α -NAD(P)H Oxidase/Anomerase. *J. Am. Chem. Soc*. 2013; 135 (37): 13980–13987.
47. Lavenia G. Rol de la renalasa en la hipertensión arterial. *Farmacología cardiovascular*. 2010; 10.
48. Bákara A, El Ghotny S. Cardioprotective Effect of Renalase in 5/6 Nephrectomized Rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2012; 17 (4): 412-416.
49. Renalase (RNLS) BioAssay TM ELISA Kit (Human), Protocol. United States Biological. www.usbio.net.

50. Rampersaud E, Damcott CM, Fu M, Shen H, McArdle P. Identification of novel candidate genes for type 2 diabetes from a genome-wide association scan in the older Amish. *Diabetes*. 2007; 56: 3053-3062.
51. Desir GV. Regulation of blood pressure and cardiovascular function by renalasa. *Kidney International*. 2009; 76: 366-370.
52. Li X, Huang R, Xie Z, Lin M, Liang Z, Yang Y, Jiang W. Renalase, a new secretory enzyme; Its role in hypertensive-ischemic cardiovascular disease. *Med Sci Monit*. 2014; 20: 688-692.
53. Peña- Arroyo, Gómez-Tapia. *Bioquímica*. 2ª Edición. México. 2009; 319-325.
54. Tórtora G J. Anagnostakos N P. *Principios de Anatomía y Fisiología*. Editorial Oxford. Sexta edición. 2000; 12: 382-385, 409.
55. Peaston RT, Weinkove C. Measurement of catecholamines and their metabolites. *Ann Clin Biochem* 2004; 41: 17-38.
56. Catecolaminas totales y fraccionadas. Protocolo en el catálogo de estudios de laboratorio del Instituto Mexicano del Seguro Social.
57. Reddy MV, Wang H, Liu S, Bode B, Reed JV, Steed RD, Anderson SW, Steed L, Hopkins D, She JX. Association between type 1 diabetes and GWAS SNPs in the southeast US Caucasian population. *Genes Immun*. 2011; 12:208-212.
58. Wu Y, Xu J, Velázquez H, Wang P, Li G, Liu D, Sampaio-Maia B, Quelhas-Santos J, Russell R, flavell RA, Pestana M, Giordano F, Desir GV. Renalase deficiency aggravates ischemic myocardial damage. *Kidney Int*. 2011; 79:853-860.
59. Maliszko J, Koc-Zorawska, Malyszko J, Kozminski P, Zbroch E, Mysliwiec M. Renalase, Stroke, and Hypertension in Hemodialyzed Patients. *Renal Failure*. 2012; 34 (6) 727-731.
60. Guyton C. A, *Tratado de fisiología médica*. 11Ed. Elsevier España, 2006; 793-809.
61. González-Caamaño. *Manejo Integral del Paciente Hipertenso*. Colección Salud. México 2013; 1-91.

62. Schlaich MP, Lambert E, Kaye DM, Krozowski Z, Campbell DJ, Lambert G, Hastings J, Aggarwal A, Esler MD. Sympathetic Augmentation in Hypertension: Role of Nerve Firing, Norepinephrine Reuptake, and Angiotensin Neuromodulation. *Hypertension*. 2003; 43: 169-175.
63. Schlaich MP, Socratous F, Hennebry S, Eikelis N, Lambert EA, Stranznicky N, Esler MD, Lambert GW. Sympathetic Activation in Chronic Renal Failure. *J Am Soc Nephrol*. 2009; 20: 933-939.
64. Carnethon MR, Jacobs DR Jr. Influence of Autonomic Nervous System Dysfunction on the Development of Type 2 Diabetes. The CARDIA Study. *Diabetes Care*. 2003; 26 (11): 3035-3041.
65. Weihong J, Yunzhong G, Lihua T, Xiaohong T, Qiong Y, Kan Y. Impact of renal denervation on renalasa expression in adult rats with spontaneous hypertension. *Exp Thert Med*. 2012; 4 (3): 493-496.
66. Guo Y, Li L, Tan L, Jin D, Wang J, Jia L, et al. Impact of renal denervation on expression of renalase and tyrosine hydroxylase in adult rats with spontaneous hypertension. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2012; 37: 829–833.
67. Jiang W, Guo Y, Tan L, Tang X, Yang Q, Yang K. Impact of renal denervation on renalase expression in adult rats with spontaneous hypertension. *Exp Ther Med* 2012; 4: 493–496.
68. Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Dobrzycki S. Renalase, kidney and cardiovascular disease: Are they related or just coincidentally associated? *Advances in Medical Sciences*. 2015; 60: 41-49.
69. Ramasubbu, N.; Paloth, V.; Luo, Y.; Brayer, G. D.; Levine, M. J. Structure of Human Salivary α -Amylase at 1.6 Å Resolution: Implications for its Role in the Oral Cavity. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*. 1996; 52 (3): 435–446.
70. Stegeren AV, Rohleder N, Everaerd W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: Effect of betablockade. *Psychoneuroendocrinology*. 2006; (31): 137-142.

71. Vineetha R, Pai KM, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes –a pilot study-. J Clin Exp Dent. 2014; 6(2):el32-el37.
72. Zbroch E, Malyszko J, Malyszko J, Koc-Zorawska E, Mysliwiec M. Renalase, kidney function, and markers of endothelial dysfunction in renal transplant recipients. Pol Arch Med Wewn. 2012; 122; (1-2) 40-44.
73. Eman W Gaber, Hoda A El-Attar. The relationship between dopamine and renalase in type 2 diabetic patients with and without diabetic nephropathy. British Journal of Diabetes & Vascular Disease. 2013; 13: 3130-3137.
74. Stegeren AV, Rohleder N, Everaerda W, Wolf OT. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: Effect of betablockade. Psychoneuroendocrinology. 2006; 31: 137-141.
75. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R. Global prevalence of Diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 2004; 27:1047-1053.
76. División de Información en Salud, IMSS, 2010. Edumed.imss.gob.mx/DivdoInf.htm.
77. Arredondo A, Zúñiga A. Economic consequences of epidemiological changes in middle income countries: the Mexican case. Diabetes Care. 2004; 27: 104-109.
78. Zbroch E, Malyszko J, Malyszko J, Koc-Zorawska E, Mysliwiec M. Renalase in Peritoneal Dialysis Patients Is Not Related to Blood Pressure, but to Dialysis Vintage. 2012; 32: 348-351.
79. Méndez-Ramírez I. Guerrero-Namihira D. Moreno-altamirano L. Sosa de Martínez C. El protocolo de investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis. Editorial Trillas. 2da edición. 2006.
80. Hernández-Sampieri R., Fernández-Collado C., Baptista-Lucio P. Metodología de la Investigación, Segunda edición, Mc Graw-Hill. México 1998.
81. Instituto Mexicano del Seguro Social. Diseño y conducción de proyectos de investigación. Volumen I. Primera edición. 1994.

82. Talavera JO, Rivas-Ruiz R, Bernal-Rosales LP. Tamaño de muestra. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2011; 49:517-522.
83. JNC VII. The Seventh Report of the National Joint Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. 2010.
84. Chobaniam AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Roccella EJ, National Heart, Lung and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The JNC 7 Report. JAMA 2003; 289:2560-2572.
85. LEY GENERAL DE SALUD. Diario Oficial de la Federación el 7 de febrero de 1984. Última reforma publicada en el DOF 19 de diciembre de 2014.
86. Norma Oficial Mexicana. NOM-012-SSA3-2012, SECRETARIA DE SALUD NORMA Oficial Mexicana Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. (Primera Sección) DIARIO OFICIAL Viernes 4 de enero de 2013.
87. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Adoptada por la 59ª Asamblea General, Seúl Corea, octubre 2008, con Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002. Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004.
88. Código de Nüremberg. Tribunal Internacional de Nüremberg. 1947.
89. Informe Belmont Principios y guías éticos para la protección de los sujetos humanos de investigación* Creación: Comisión Nacional para la protección de los sujetos humanos de investigación biomédica y comportamental. National Institutes of Health: 18 de abril de 1979. Estados Unidos de América.

90. Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos, Título 37, Subcapítulo A-Oficina de las normas de derecho de autor y los procedimientos y Subcapítulo B-Procedimientos de mediación y arbitraje sobre los derechos de autor. 2012.
91. Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos. Preparadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud. Ginebra, 2002.
92. Krum H, Lambert E, Windebank E, Campbell DJ, Esler M. Effect of angiotensin II receptor blockade on autonomic nervous system function in patients with essential hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006; 290: H1706-1712).
93. Davy KP, Orr JS. Sympathetic nervous system behavior in human obesity. *Neuroscience Biobehavioral Reviews.* 2009; 33:116-124.
94. Mancia G, Bousquet P, Elghozi JL, Esler M, Grassi G, Julius S, et al. The sympathetic nervous system and the metabolic syndrome. *J Hypertens.* 2007; 25:909-920.
95. Kobayashi D, Takamura M, Murai H, Usui S, Ikeda T, et al. Effect of pioglitazone on muscle sympathetic nerve activity in type 2 diabetes mellitus with α -glucosidase inhibitor. *Auton Neurosci.* 2010; 158: 86-91.
96. Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 2008; 9:193-205.
97. Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-671.
98. Luft FC. Renalase, a catecholamine-metabolizing hormone from the kidney. *Cell Metabolism* 2005; 358-360.
99. Chatterton RT Jr, Vogelsong KM, Lu Yu-cai, Ellman AB, Hudgens GA. Salivary α -amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol and Functional Imaging.* 1996; 16:433-448.

100. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. *Psychoendocrinology*. 2009; 34: 486-496.
101. Grassi G, Seravalle G, Dell'Oro R, Turri C, Bolla GB, Mancina G. Adrenergic and reflex abnormalities in obesity-related hypertension. *Hypertension* 2000; 36: 538-542.
102. Corry DB, Tuck ML. Obesity, hypertension and sympathetic nervous system activity. *Current hypertension Reports* 1999; 1:119-126.
103. Lips MA, de Groot GH, De Kam M, Berends FJ, Wiezer R, Van Wagenveld BA, et al. Autonomic nervous system activity in diabetic and healthy obese female subjects and the effect of distinct weight loss strategies. *Eur J Endocrinol* 2013; 169:383-390
104. Neuman J, Ligtenberg G, Klein II, Koomans HA, Blankestijn PJ. Sympathetic hyperactivity in chronic kidney disease: pathogenesis, clinical relevance, and treatment. *Kidney Int* 2004; 65:1568-1576.
105. Chrapko B, Grzebalska A, Nocun A, Ksiazek K, Andrzej D. Cardiac sympathetic hyperactivity in chronic kidney disease. A comparison between haemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Nuclear Medicine Review* 2014; 17: 2:75-82.
106. Williams and Wilkins. The kidney as an endocrine organ. En. *The Kidney. Physiology and pathophysiology*. Third edition; vol 1. Ed Lipponcott. 2000; pp: 1009-1091.
107. Natchin YV. Human physiology: The kidney. *Human Physiol* 2010; 36 (5): 501-509.
108. Gorodezky C, Alaez C, Vázquez-García MN, De la Rosa G, Infante E, Balladares S, Toribio R, et al. The genetic structure of Mexican Mestizos of different locations: tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Hum Immunol*. 2001; 62 (9): 979-981.

109. Schlaich M, Straznicky N, Lambert E, Lambert G. Metabolic syndrome: a sympathetic disease? *Lancet diabetes and endocrinol.* 2015; 3 (2): 148-157.
110. Wang F, Li J, Xing T, Xie Y, Wang N. Serum renalase is related to catecholamine levels and renal function. *Clin Exp Nephrol.* 2015; 19 (1):92-98.
111. Ferrannini E, Haffner SM, Stern MP. Essential hypertension: an insulin-resistant state. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990; 15 Suppl 5: S18-S25.
112. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity *Front Med.* 2013; 7(1):14-24.

12. ANEXOS

Anexo 1:



Carta de consentimiento informado.
Participación voluntaria en protocolos de
Investigación Clínica.

Nombre del paciente: _____ Número de afiliación _____ Clave: _____

Morelia, Michoacán a: _____ de: _____ del: _____

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:

“Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2”

Registrado ante el Comité Local de Investigación con el número: R-2013-1602-7 el día 22 de marzo de 2013

El objetivo del presente estudio es analizar si concentraciones bajas en sangre de la renalasa (una sustancia producida principalmente en el riñón) y al parecer responsable de metabolizar a las catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y dopamina, “sustancias producidas en el organismo y que nos indican cómo está funcionando parte del sistema nervioso en este caso *el Sistema Nervioso Simpático* que es indispensable para un buen funcionamiento del corazón y de la presión arterial entre otras cosas” y que frecuentemente se encuentran alteradas en los pacientes con diabetes, se relaciona con la fisiopatología (causa(s)) de la Diabetes mellitus tipo 2.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en responder el cuestionario que se me realizará, someterme a somatometría (peso, talla, circunferencia de la cintura y de la cadera) y medición de signos vitales (presión arterial, y frecuencia cardiaca) así como a pruebas de laboratorio como química sanguínea 6 (glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total y triglicéridos), albúmina en sangre (la proteína más abundante en sangre). Para valorar la función del sistema nervioso simpático se realizará mediante la determinación de la actividad alfa amilasa en saliva por lo que también se me pedirá una muestra de su saliva, y la medición de renalasa en sangre.

También se me ha informado que traeré una muestra de orina la cual utilizarán para medir la presencia de proteínas en orina, creatinina en orina y las cantidades de sodio en orina y que servirán para estimar cuanta sal ingiero en 24 horas y para calcular si mis riñones están funcionando bien o si su función ya está disminuida.

Los investigadores se comprometen a responder cualquier pregunta y aclarar las dudas que sean planteadas acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo y si existieran, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto. El investigador Responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Se anexan nnúmeros telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio.

Nombre y firma del paciente

Libertad Escudero Hernández
Especialista en Medicina Familiar
Cédula Prof. Y Esp. 5907301
Móvil: 443 117 03 32

Nombre y firma Testigo 1

Nombre y firma Testigo 2

Anexo 2:



Formato de captura

Renalasa sérica y alfa amilasa salival en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2

Clave del paciente _____

Fecha de captura:	
Nombre del paciente:	
Número de afiliación:	
Ocupación:	
Edad:	
Género:	
Domicilio: (Calle y número)	
Fraccionamiento:	
Ciudad y CP:	
Teléfonos:	

Variables y Unidades de medida.	Resultados:
DM2 y tiempo de evolución	
HAS y tiempo de evolución	
Enfermedades concomitantes	
Parámetros antropométricos	
Peso (kg)	
Talla (m)	
IMC	
Circunferencia cintura (cm)	
Circunferencia cadera (cm)	
Índice cintura/cadera (cm)	

Parámetros clínicos	
Frecuencia cardiaca (x min)	
Presión arterial (mmHg)	
Parámetros bioquímicos	
Glucosa (mg/dL)	
Urea (mg/dL)	
Creatinina (mg/dL)	
Ácido úrico (mg/dL)	
Colesterol total (mg/dL)	
Triglicéridos (mg/dL)	
Albúmina (g/dL)	
Renalasa (ng/mL)	
Alfa amilasa salival (U/mL)	
Proteína C reactiva (mg/dL)	
Función renal (ml/hora)	
Adrenalina sérica	
Noradrenalina sérica	
Dopamina sérica	
Examen general de orina	
Enfermedades y tratamiento actual	
Tratamiento de la Diabetes (tipo y dosis)	
Tratamiento de la hipertensión (tipo y dosis)	
Otras enfermedades y medicamentos (tipo y dosis)	
Observaciones	

ANEXO 3

ACTIVIDAD	S E M E S T R E																												
	PRIMERO							SEGUNDO							TERCERO							CUARTO							QUINTO
	2013 - 2013							2013 - 2014							2014 - 2014							2014 - 2015							2015 - 2015
	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	FEB - AGO
Revisión bibliográfica	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Elaboración de anteproyecto	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Diseño de formatos y anexos		*	*	*	*	*	*																						
Marco teórico	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Busqueda de autorización por Comités inst.		*	*	*							*																		
Presentación de anteproyecto											*																		
Identificación de pacientes con criterios												*	*	*	*	*	*	*	*	*	*								
Firmas de consentimiento informado												*	*	*	*	*	*	*	*	*	*								
Pruebas de laboratorio												*	*	*	*	*	*	*	*	*	*								
Primer avance														*															
Captura de base de datos												*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*							
Análisis de resultados														*	*	*	*	*	*	*	*								
Análisis estadístico														*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Diseño de figuras y cuadros																		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Segundo avance																							*						
Escritura manuscrito memoria de tesis																		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
Avance del 100%																													*
Examen de grado																													*