



UNIVERSIDAD POPULAR AUTÓNOMA DEL ESTADO DE PUEBLA

Centro Interdisciplinario de Posgrados

Laboratorios Ruiz

“Descripción de la puntuación en pacientes con progresión de la Resistencia a la Insulina mediante la prueba de QUANTOSE RI”

Tesis para obtener el grado de:
ESPECIALIDAD EN PATOLOGÍA CLÍNICA

Presenta:

Dra. Ana Victoria Rodríguez Sifriano

Residente de tercer año de la Especialidad en Patología Clínica

Director de tesis Metodológico

Dra. Briceida López Martínez

Patólogo Clínico

Directora de Enseñanza e Investigación, Laboratorios Clínicos de Puebla, Synlab.

Colaborador:

MC. Alin Vera del Razo

Supervisor del área de Metabólica
Laboratorios Clínicos de Puebla, Synlab.

Sede del estudio Laboratorios Ruiz, miembro de Synlab.

Puebla, Pue., México, Febrero de 2023.



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

Dirección del Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación.

Biblioteca Central - **Karol Wojtyla**

Tesis Digitales Restricciones de uso:

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

El uso de textos, imágenes, gráficas, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente de donde la obtuvo mencionando el autor o autores involucrados en el documento.

Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Aprecio la orientación de la Dra. Briceida López Martínez y conocimientos brindados para para realizar este trabajo.

Agradezco a la vida por contar con mi familia que siempre me apoya y alienta a confiar en mí para emprender y culminar todos mis proyectos.

A mis compañeros de generación, con quienes forme un gran equipo de trabajo y estudio en este tiempo de residencia, que enriquecieron mi formación profesional con sus conocimientos y experiencia y me brindaron su apoyo y amistad desde el primer día.

Doy las gracias también a la MC. Alin Vera del Razo y al Dr. Héctor García Alcalá por compartir su valioso tiempo y conocimientos sobre el tema, así como sus aportaciones a este proyecto.

Dedicatoria

A mis padres, que siempre me han brindado su amor, cuidado, seguridad y apoyo incondicional para realizarme plenamente a lo largo de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Agradecimientos.....	-
2 -	
Dedicatoria.....	i
Error! Marcador no definido.	
Índice de tablas.....	
5 -	
Índice de figuras.....	
5 -	
Abreviaturas.....	
6 -	
Resumen.....	11
I.	
Introducción.....	¡E
rror! Marcador no definido.	
A.	
Justificación.....	¡E
rror! Marcador no definido.	
B. Planteamiento del	
problema.....	¡Error! Marcador no
definido.	
C. Pregunta de	
investigación.....	¡Error! Marcador no
definido.	
D.	
Hipótesis.....	¡E
rror! Marcador no definido.	
II. Marco	
teórico.....	¡Error! Marcador
no definido.	
A. Definición de Resistencia a la	
insulina.....	¡Error! Marcador no definido.
B. Etiología de la Resistencia a la insulina.....	19
1. Función de la Insulina.....	19
C. Patogenia de la resistencia a la insulina.....	29
D. Patologías asociadas a la resistencia a la insulina.....	30
J. Diagnóstico.....	41

1.	Pruebas diagnósticas.....	42
3.	Quantose IR.....	45
III.	Objetivos.....	56
A.	Objetivo general.....	56
B.	Objetivos específicos.....	56
IV.	Métodos.....	57
A.	Diseño de estudio.....	57
B.	Universo de trabajo.....	57
C.	Definición de las unidades de observación.....	57
1.	Criterios de inclusión.....	57
2.	Criterios de exclusión.....	57
3.	Criterios de eliminación.....	58
D.	Ubicación espacio temporal.....	58
E.	Estrategia de muestreo.....	58
F.	Definición de variables.....	59
G.	Métodos de recolección de información y estrategia de trabajo.....	61
1.	Interpretación de la prueba de Quantose IR.....	63
H.	Análisis estadístico.....	65
V.	Recursos.....	66
VI.	Lineamientos bioéticos.....	68
VII.	Resultados.....	69
VIII.	Discusión.....	77
IX.	Conclusiones.....	83
X.	Recomendaciones.....	84
XI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
XII.	ANEXOS.....	89

Índice de tablas

Tabla 1.	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 2.	49
Tabla 3.	70
Tabla 4.	72
Tabla 5.	74

Índice de figuras

Figura 1.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 3.	¡Error! Marcador no definido.

Figura 4.	30
Figura 5.	33
Figura 6.	40
Figura 7.	42
Figura 8.	43
Figura 9.	47

Abreviaturas

RI	Resistencia a la insulina
QUANTOSE RI	Prueba diagnóstica de Resistencia a la Insulina, marca comercial de Metabolon Inc.
AHB	Ácido alfa - hidroxibutírico
LGPC	Ácido linoleoilglicerofosfolina
UHPLC LC-MS/MS	Espectrometría de masas / Cromatografía líquida
I	Insulina
IRS-1	Substrato del receptor de Insulina

1. Resumen

Introducción

Se define como resistencia a la insulina (RI) a la disminución de la acción de la Insulina a nivel celular, en consecuencia el páncreas eleva la secreción de ésta, generándose un estado de “hiperinsulinismo” compensatorio.

Quantose RI™ es una prueba que utiliza un panel de biomarcadores conformado por un ácido orgánico (ácido alfa-hidroxibutírico), dos lípidos (ácido oleico y linoleoilglicerofosfolina) y la insulina; las concentraciones de éstos analitos se integran y analizan en un algoritmo, el cual genera una puntuación en una escala de 1-120 para estimar el valor obtenido del Clamp hiperinsulinémico-euglucémico, que representa el estándar de oro para medir la sensibilidad tisular a la insulina así como la secreción de ésta.

Objetivo general.

Se analizó el comportamiento de las concentraciones de los analitos del panel de biomarcadores del algoritmo de la prueba de Quantose IR en pacientes con progresión de un estado de sensibilidad a la insulina a un estado de resistencia en menos de 1 año.

Metodología.

Estudio, descriptivo, observacional, retrospectivo y transversal, en un laboratorio privado en la

Ciudad de Puebla de junio de 2018 a marzo 2022, mayores de 9 años y ambos sexos.

Resultados.

53 casos de individuos con 1° resultado reportado con sensibilidad a la insulina y con seguimiento dentro del primer año posterior con reporte de resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina se confirmó en el 100% de los caso en la evaluación de seguimiento.

Conclusiones.

El test Quantose™ IR para medir la resistencia a la insulina está validado para predecir el riesgo de progresión a la alteración de glucosa en ayunas en un plazo de tres años. Sin embargo es importante realizar más estudios en el comportamiento del panel de biomarcadores para determinar la frecuencia con que se debe hacer el tamizaje en casos de puntaje Negativo en pacientes con factores de riesgo.

Palabras claves: QUANTOSE RI, Insulina, Sensibilidad a la insulina, Resistencia a la insulina.

2. Abstract

Introduction

Insulin resistance (IR) is defined as a decrease in insulin action at the cellular level, as a result of which the pancreas increases insulin secretion, generating a state of compensatory "hyperinsulinism".

Quantose RI™ is a test that uses a panel of biomarkers consisting of an organic acid (alpha-hydroxybutyric acid), two lipids (oleic acid and linoleoylglycerophosphocholine) and insulin; The concentrations of these analytes are integrated and analyzed in an algorithm, which generates a score on a scale of 1-120 to estimate the value obtained from the hyperinsulinemic-euglycemic Clamp, which represents the gold standard for measuring tissue sensitivity to insulin as well as insulin secretion.

Overall objective.

We analyzed the behavior of the concentrations of the biomarker panel analytes of the Quantose IR test algorithm in patients with progression from a state of insulin sensitivity to a state of resistance in less than 1 year.

Methodology.

Study, descriptive, observational, retrospective and cross-sectional, in a private laboratory in the City of Puebla from June 2018 to March 2022, older than 9 years and both sexes.

Results.

53 cases of individuals with 1st reported result with insulin sensitivity and with follow-up within the first subsequent year with report of insulin resistance. Insulin resistance was confirmed in 100% of cases at follow-up evaluation.

Conclusions.

The Quantose™ IR test for measuring insulin resistance is validated to predict the risk of progression to impaired fasting glucose within three years. However it is important to perform further studies on the behavior of the biomarker panel to determine how often to screen for Negative scores in patients with risk factors.

Key words: QUANTOSE RI, Insulin, Insulin sensitivity, Insulin resistance.

3. Antecedentes generales.

3.2 Introducción.

La resistencia a la insulina se ha definido como una alteración del proceso biológico que ejerce la insulina a nivel celular sobre los tejidos diana: músculo, hígado y tejido adiposo. Que a su vez, produce alteraciones en el metabolismo de la glucosa, lípidos y proteínas.

Frente a estos cambios el páncreas responde con un aumento en la secreción de insulina generando un estado compensatorio conocido como “hiperinsulinismo”.

Afecciones como la hiperglucemia, hipertensión, dislipidemia, adiposidad visceral, hiperuricemia, marcadores inflamatorios elevados, disfunción endotelial y estado protrombótico, son resultado de los cambios metabólicos a partir de la resistencia a la insulina. Los cuales si persisten, puede conducir al síndrome metabólico, la enfermedad del hígado graso no alcohólico y la diabetes mellitus tipo 2.

A nivel mundial la resistencia a la insulina está fuertemente ligada al sedentarismo y a la obesidad, especialmente la categorizada como de predominio abdominal, aunque también se identifican causas genéticas.

La obesidad, es un estado pro inflamatorio, es decir, en el organismo se potencializa la producción de citoquinas inflamatorias por parte del adipocito visceral, por ejemplo: TNF- α , IL-6, PAI-1,

resistina, angiotensinógeno. Inversamente se presenta disminución de la adiponectina, la cual tiene la función de sensibilizar los tejidos hacia el efecto de la insulina.

La insulina es una hormona anabólica, los niveles elevados durante el hiperinsulinismo compensatorio promueven la ganancia de peso, que simultáneamente agudiza la resistencia a la insulina. Éste ciclo continúa hasta que la funcionalidad de las células beta del páncreas ya no logran cubrir la demanda de insulina, lo que conlleva a un estado de hiperglucemia.

La principal consecuencia de la resistencia a la insulina es la diabetes tipo 2, se estima que la resistencia a la insulina anticipa a la progresión de ésta enfermedad entre 10 y 15 años.

3.3 Insulina y su receptor

La insulina es una hormona proteica, secretada exclusivamente por las células beta del páncreas, su estructura es estabilizada por zinc, el cual se separa y transporta a la forma activa de insulina, que está integrada por las subunidades A y B.

El estímulo de mayor relevancia para la secreción de insulina es la α -D-glucosa. Después de la ingesta de alimentos, los nutrientes son absorbidos y a través del sistema porta llegan al páncreas.

Al incrementarse la concentración de glucosa proporcionalmente aumenta la secreción de insulina. La célula beta realiza la conversión de las señales químicas en eléctricas, a consecuencia, se liberan los gránulos de insulina al incrementar la concentración de calcio a nivel intracelular.

Todas las células del organismo tienen receptores a insulina, no obstante, estos son más numerosos en hígado, tejido graso y músculo esquelético.

El receptor de Insulina es un complejo conformado por 2 cadenas α y 2 cadenas β , pertenece a la familia de receptores con actividad de cinasa de tirosina. La subunidad alfa es completamente extracelular y tiene la función de unir la insulina y regular la actividad de la subunidad beta.

La subunidad beta tiene la característica de ser extra, trans e intracelular, y por lo tanto se componen de 3 dominios:

- 1) Dominio transmembrana: funciona como anclaje.
- 2) Dominio yuxtamembrana: ayuda para la internalización del receptor.
- 3) Dominio con capacidad catalítica tipo tirosincinasa, que presenta tres residuos tirosina.

Cada subunidad tiene la capacidad de unir una molécula de insulina con alta afinidad y otra con baja afinidad. 1

3.4 Unión de la insulina a su receptor

Al unirse la insulina al receptor se activa su carácter intrínseco de tirosincinasa de autofosforilación de los dominios de tirosina de las cadenas β , de manera que prepara al receptor para iniciar la cascada de fosforilación. Los dominios de tirosina ya fosforilados funcionan como sitios de anclaje.

Los IRS (substrato del receptor de Insulina) son moléculas que contienen múltiples dominios de tirosina y regiones reguladoras a base de sitios de serina y treonina (Ser/Tre), todos capaces de fosforilarse. Se han identificado cuatro variedades de IRS, los tipos 1 y 2 coinciden estructuralmente, aproximadamente en un 80%. Los sitios con dominios de tirosina (Tir) de los IRS, también actúan como anclaje de otras proteínas, por ejemplo la proteína de unión al receptor de crecimiento 2 (Grb2), que en conjunto favorecen las funciones metabólicas y de crecimiento celular dependientes de la insulina.

La señalización post-receptor implica dos vías:

1) Vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K/Akt) o proteína cinasa B (PKB), encargada de la mayoría de sus acciones metabólicas.

Esta vía lleva a la fosforilación de sustratos con funciones importantes en el metabolismo, como enzimas, factores de transcripción, proteínas reguladoras del ciclo celular y proteínas de apoptosis y supervivencia.

Existen tres isoformas de Akt, entre las que destaca Akt2 para el proceso metabólico de la insulina, participa en la incorporación de glucosa en tejido adiposo y músculo por medio de la translocación de GLUT-4 desde los compartimentos intracelulares a la membrana celular, incrementando así la captación de glucosa a nivel celular.

2) La proteincinasa activada por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), coordina la expresión genética y los efectos mitogénicos asociados a la insulina.

Los efectos promotores del crecimiento por parte de la insulina son mediados por medio de la activación de esta vía.

La fosforilación de los dominios de tirosina de las proteínas IRS interactúan con la proteína unida al receptor del factor de crecimiento 2 (Grb2), que incorpora al factor de recambio de nucleótidos de guanina (SOS) a la membrana plasmática para activar la proteína G pequeña Ras, catalizando el intercambio de difosfato de guanosina (GDP) por trifosfato de guanosina (GTP) en Ras, lo que permite su activación.

El Ras-GTP activa la cascada de MAPK, a través de la activación secuencial de Raf, MEK y ERK1/2. Una vez activas, ERK1/2 se translocan al núcleo y catalizan la fosforilación de factores de transcripción que regulan la expresión génica y promueven el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celulares. La cinasa ERK1 es necesaria para la adipogénesis.

Figura. 1. Descargado de journals.physiology.org/journal/physrev (201.149.075.182).

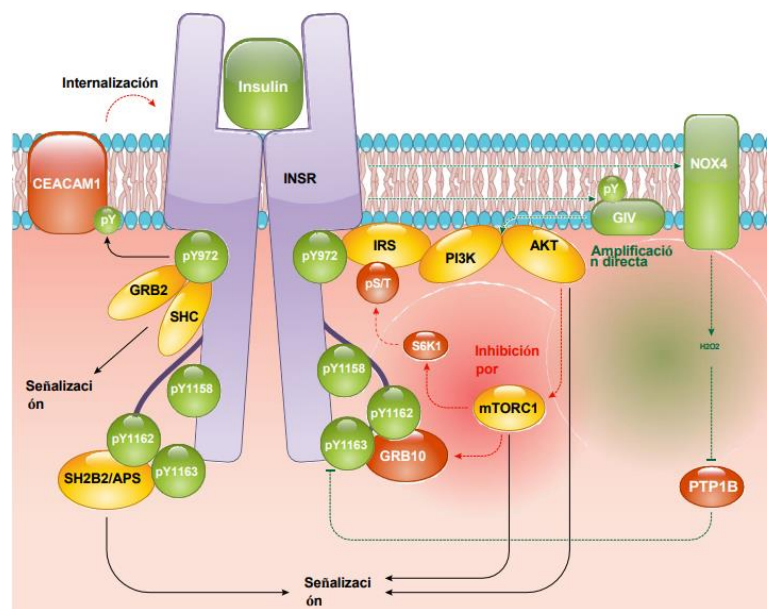
3.5 Señalización de la insulina en el músculo esquelético

El tejido muscular es consumidor de energía; la energía que almacena el miocito es principalmente para un uso posterior, opuesto a esto, el lactato y la alanina, que son producto de la glucólisis, son liberadas por el miocito con dirección al hígado.

La cascada de insulina impulsa la glucosa y la glucógeno, insulina músculo la cantidad basta.

El requisito receptor de

miocelular para estos procesos se demostró mediante estudios de clamp



de señalización en el miocito captación de síntesis de por lo que la indica al esquelético que de glucosa es

absoluto del insulina

hiperinsulinémicoeuglucémico en ratones knockout INSR específicos de músculo (MIRKO), que mostraron alteraciones en la captación de glucosa muscular estimulada por insulina y en la síntesis de glucógeno muscular.

Estos eventos de señalización proximal de la insulina (activación del receptor de insulina y reclutamiento/fosforilación de proteínas de señalización, principalmente las isoformas IRS, PI3K y AKT) se conservan en gran medida en los tejidos diana de la insulina e inician la respuesta de la insulina en la membrana plasmática.

A continuación, consideraremos individualmente los tipos celulares clave que responden a la insulina para describir mejor cómo los efectores descendentes específicos producen respuestas fisiológicas específicas de cada tejido.

EL efecto funcional de la cascada de señalización miocelular de la insulina se consigue mediante la translocación y fusión altamente coordinadas del transportador de glucosa GLUT4, empaquetado en vesículas de almacenamiento GLUT4 (GSV), a la membrana plasmática.

El control de PI3K sobre la translocación de GLUT4 está mediado por una señalización paralela a través de AKT y la Rho GTPasa RAC1 e implica la acción coordinada de muchas proteínas implicadas en el tráfico y la fusión de GSV.

La AKT fosforila varias proteínas implicadas en la captación miocelular de glucosa. Los mejor caracterizados de estos sustratos de AKT son la proteína activadora de GTPasas (GAP) AKT sustrato de 160 kDa (AS160), también conocida como TBC1D4, y la GAP relacionada TBC1D1. La fosforilación por AKT bloquea la inactivación por TBC1D4/TBC1D1 de pequeños interruptores de proteínas Rab GTPasas que controlan el tráfico de vesículas; el efecto neto es promover la translocación de GSV. RAB8, RAB10 y RAB14 han sido implicados como dianas de TBC1D4/TBC1D1.

La relevancia fisiológica de AS160 fue confirmada por la identificación de una familia portadora de una mutación truncante en TBC1D4 que provocó una profunda resistencia a la insulina.

En general, la fosforilación por AKT de TBC1D1/TBC1D4 puede considerarse como la insulina "liberando los frenos" de la translocación de GLUT4. La Rho GTPasa RAC1 coordina un segundo mecanismo de señalización dependiente de PI3K para la captación de glucosa estimulada por insulina en el músculo esquelético. La señalización RAC1 promueve la translocación de GLUT4 induciendo la reorganización cortical de la actina. Las dianas directas de RAC1 incluyen la quinasa asociada a p21 (PAK); la insulina promueve la forma unida a GTP de RAC1, que estimula la fosforilación de PAK al aliviar la autoinhibición de PAK. La inactivación específica de RAC1 en el músculo afecta gravemente a la captación de glucosa estimulada por insulina a pesar de que se

mantiene la activación de AKT, y la sobreexpresión forzada de RAC1 constitutivamente activa en el músculo provoca la translocación de GLUT4 incluso en ausencia de estimulación por insulina.

La glucosa que entra en el miocito tras la estimulación de la insulina tiene dos posibles destinos principales: la glucólisis o la síntesis de glucógeno. La principal vía de eliminación de glucosa estimulada por la insulina tanto en el músculo humano sano como en el diabético tipo 2 es la síntesis de glucógeno (~75%), lo que concuerda con el papel teleológico general de la insulina como hormona de almacenamiento de energía.

Sin embargo, la oxidación de glucosa también aumenta a medida que la mayor disponibilidad de sustrato impulsa el flujo glucolítico. Aunque los aumentos agudos estimulados por la insulina en el flujo glucolítico del músculo esquelético y la síntesis de glucógeno son principalmente una secuencia del aumento de la actividad de transporte de glucosa y la regulación alostérica subsiguiente por metabolitos de glucosa, la insulina regula de forma independiente tanto la glucólisis como la síntesis de glucógeno.

La insulina regula positivamente la transcripción de la hexoquinasa II, la principal isoforma del músculo esquelético de la primera enzima glucolítica, proporcionando así un control relativamente lento y grueso de la capacidad glucolítica. En cambio, la síntesis de glucógeno está sujeta a una regulación aguda por la insulina de los flujos anabólicos [glucógeno sintasa (GS)] y catabólicos [glucógeno fosforilasa (GP)]. Esta regulación aguda se produce tanto por modificación covalente (la insulina promueve la desfosforilación de la GS y la GP) como por alosteria (por glucosa-6-fosfato).

La insulina favorece que la proteína fosfatasa 1 (PP1) se dirija a las partículas de glucógeno y aumenta la actividad de la PP1 hacia la GS, pero no se conocen bien los mecanismos moleculares específicos responsables de esta actividad. Canónicamente, la combinación de GSK3 inactiva y PP1 activa promueve la formación de GS muscular activa y desfosforilada, facilitando así la síntesis de glucógeno.

El estado de fosforilación de la GS, por tanto, sirve para modular la afinidad de la enzima por la glucosa-6-fosfato. La GS desfosforilada es más sensible al alosterio glucosa-6- fosfato, facilitando la activación de la síntesis de glucógeno estimulada por la insulina. Sin embargo, el aumento de la actividad de la GS por sí solo es insuficiente para que la insulina promueva la glucogénesis neta. La actividad de la glucógeno fosforilasa debe reducirse simultáneamente para evitar el ciclado del glucógeno. En el lado catabólico del metabolismo del glucógeno, la insulina regula la actividad de la glucógeno fosforilasa mediante mecanismos muy similares a los de la GS: fosforilación y alosteria.

La acción de la insulina muscular es, por tanto, un proceso estrechamente coordinado que sirve para promover la utilización y el almacenamiento de glucosa.

3.6 Señalización hepática de la insulina

La señalización de la insulina hepática comienza, como en todos los tipos celulares, con la trans-autofosforilación, activación y reclutamiento del INSR.

Las principales isoformas de IRS expresadas en los hepatocitos son IRS1 e IRS2. Diversas alteraciones genéticas de la expresión hepática de estas isoformas no ha permitido definir claramente las funciones de cada una de ellas; más bien, la evidencia disponible sugiere que éstas desempeñan funciones similares en el hígado.

Sin embargo, sigue siendo muy posible que IRS1 e IRS2 desempeñen, al menos parcialmente, funciones distintas en la señalización hepática de la insulina; esta hipótesis está respaldada por 1) la potente regulación por insulina de la transcripción de IRS2, pero no de IRS1, en el hígado; y 2) el motivo único KRLB de IRS2, que se une al dominio tirosina quinasa de INSR y puede limitar su actividad.

La principal subunidad catalítica de PI3K en la señalización hepatocelular de la insulina es p110 α ; la delección hepática específica de esta isoforma afecta gravemente a la generación de PIP3 estimulada por la insulina, a la activación de AKT y a la supresión de la producción de glucosa en el hígado.

La estimulación de la síntesis neta de glucógeno es una de las principales funciones fisiológicas directas de la insulina postprandial en el hepatocito. En humanos, la estimulación máxima de la tasa neta de síntesis de glucógeno hepático en condiciones de hiperglucemia e hipoglucemia se produce a concentraciones de insulina en la vena porta de 20 -25 μ U/ml. Al igual que en el músculo esquelético, la síntesis de glucógeno hepático se regula mediante fosforilación y alostería, siendo la alostería de importancia crítica.

El transporte de glucosa en el hepatocito no está regulado por la insulina y, por lo tanto, ésta ejerce un control menos completo sobre las tasas de síntesis de glucógeno que en el músculo esquelético. Por ejemplo, la hiperglucemia es suficiente para inactivar la glucógeno fosforilasa hepática por alostería de glucosa y promover así la síntesis neta de glucógeno hepático. La hiperglucemia también provoca la translocación de la glucoquinasa del núcleo al citoplasma, permitiendo el flujo glucosa-G6P. Sin embargo, la señalización de la insulina hepática a través del INSR es necesaria para la síntesis normal de glucógeno.

El aumento de la expresión de la glucoquinasa es crítico para la acción de la insulina hepática no sólo porque aumenta la alostería de G6P en GYS2, sino porque controla el uso y almacenamiento hepático de glucosa. El análisis del control metabólico ha demostrado que la expresión de la glucoquinasa es un importante lugar de control de la velocidad del flujo de síntesis de glucógeno, y

la actividad de la glucoquinasa también impulsa la lipogénesis de novo mediante el empuje de sustrato.

El control del metabolismo hepático del glucógeno por la insulina también implica la supresión del flujo glucogenolítico. Los mecanismos implicados son similares a los descritos anteriormente para el músculo. La secuencia de la fosforilasa hepática es idéntica en un 79% a la de la fosforilasa muscular humana, por lo que algunos de sus mecanismos de regulación son similares.

La inactivación de la fosforilasa por la insulina puede ser imitada por la expresión de AKT constitutivamente activa, lo que indica que la señalización ca- nónica de la insulina contribuye a la supresión de la glucogenólisis. El control de la glucogenólisis también está estrechamente relacionado con el control de la síntesis de glucógeno: la subunidad de la PP1 que se dirige al glucógeno de tipo hepático (GL) se une a la fosforilasa activa y es inhibida por ésta, lo que constituye una salvaguardia contra la síntesis simultánea de glucógeno.

Dado el rápido equilibrio, no regulado por insulina, de la glucosa a través de la membrana plasmática hepatocelular, y el papel de la glucogenolisis hepática en el mantenimiento de la euglucemia, la glucosa tiene un excelente sentido teleológico como principal controlador alostérico de la actividad de la fosforilasa hepática. La insulina y la glucosa actúan de forma concertada para regular el metabolismo del glucógeno hepático mediante estos mecanismos. Aunque los datos fisiológicos apoyan un modelo en el que la hiperinsulinemia es necesaria y suficiente para aumentar el flujo de síntesis de glucógeno hepático, la hiperglucemia es necesaria y suficiente para suprimir la glucogenólisis hepática, y tanto la hiperinsulinemia como la hiperglucemia son necesarias para promover la síntesis neta de glucógeno hepático.

Otro mecanismo clave por el que la insulina responde al estado de alimentación es la represión transcripcional de los genes gluconeogénicos, mediada principalmente por los factores de transcripción FOXO.

FOXO1 es una diana de AKT particularmente bien caracterizada con importantes funciones fisiológicas en el hepatocito. AKT fosforila tres residuos en FOXO1: Thr24, Ser256 y Ser319, aunque otras quinasas también pueden dirigirse a estos sitios. El FOXO1 fosforilado es excluido del núcleo, lo que impide su actividad como factor de transcripción. FOXO1 activo y nuclear se une al coactivador transcripcional (peroxisome proliferative activated receptor-coactivator 1-a) (PGC1a) para coordinar un programa transcripcional gluconeogénico que aumenta la expresión de glucosa-6-fosfatasa (G6pc) y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa citosólica (Pck1) (569, 664). FOXO1 activo también se une al co-represor SIN3A para disminuir la expresión de la glucoquinasa, favoreciendo aún más la exportación de glucosa.

Además de los factores de transcripción FOXO, un complejo transcripcional que incluye la proteína de unión a elementos de respuesta al AMPc (CREB), la proteína de unión a CREB (CBP) y la

coactiva de transcripción regulada por CREB 2 (CRTC2) controla la expresión de genes gluconeogénicos de forma dependiente de la insulina. Se ha demostrado que el módulo CREB/CRTC2 es crítico para la expresión de genes gluconeogénicos en las primeras horas de ayuno, mientras que el módulo FOXO1/PGC1 α es más crítico durante ayunos más prolongados. La fosforilación de CRTC2 promueve su exportación del núcleo, lo que conduce a la poliubiquitinación y degradación, desactivando así el programa gluconeogénico de CRTC2.

El contenido hepático de glucógeno decae exponencialmente con la duración del ayuno (lo que implica que su derivado, la tasa de glucogenólisis hepática neta, también decae exponencialmente con el ayuno), con un agotamiento casi total tras 48 horas. En contraste, las tasas absolutas de gluconeogénesis hepática permanecen relativamente constantes durante las primeras 48 h del ayuno, hasta que la limitación del sustrato (es decir, lactato, alanina) resulta en una disminución del flujo gluconeogénico.

Dado que las concentraciones plasmáticas de glucosa en un sujeto en ayunas reflejan la HGP, una implicación interesante de estas observaciones es que la concentración plasmática de glucosa (y, por ejemplo, la concentración plasmática de insulina) durante un ayuno es una señal sistémica clave que refleja el contenido hepático de glucógeno (es decir, las reservas de carbohidratos disponibles para el SNC y otros tejidos obligados a utilizar glucosa).

Teniendo esto en cuenta, la supresión directa de la glucogenólisis hepática neta por la insulina es sin duda un factor fisiológico importante de la supresión de la HGP por la insulina.

La insulina también tiene efectos hepatocelulares directos sobre el metabolismo lipídico. El más prominente de estos efectos es la regulación transcripcional de varios genes de la lipogénesis de novo (DNL).

El efecto global es promover el almacenamiento de lípidos en el hepatocito y disminuir la disponibilidad de ácidos grasos para su oxidación por otros tejidos. Las concentraciones plasmáticas de triglicéridos disminuyen precipitadamente a los 15 min de la infusión de insulina, aunque en el contexto de una comida mixta, los triglicéridos absorbidos anularán este efecto.

La DNL, al igual que la gluconeogénesis, está sometida a un lento pero potente control transcripcional por un mecanismo dependiente de PI3K/AKT. Sin embargo, a diferencia de la gluconeogénesis, la DNL también se regula de forma aguda mediante la fosforilación de enzimas lipogénicas estimulada por la insulina. Aunque se ha calculado que el flujo de DNL sólo representa el ~25% del flujo lipogénico hepático (en comparación con ~60% de la esterificación de los ácidos grasos circulantes y 15% de los lípidos de la dieta), la estimulación de la DNL por la insulina está en consonancia con su efecto anabólico general.

El principal regulador transcripcional de la DNL hepática es la proteína 1c de unión a elementos reguladores de la esteatosis (SREBP-1c), que promueve la DNL potenciando la transcripción de varias enzimas lipogénicas, en particular la acetil-CoA carboxilasa 1 (Acaca), la sintasa de ácidos grasos (Fasn) y la glicerol-3-fosfato aciltransferasa 1 (Gpam). La sobreexpresión hepática específica de SREBP-1c es suficiente para causar esteatosis hepática.

Un mecanismo transcripcional más rápido por el que la insulina aumenta el flujo de DNL es la inducción de la glucoquinasa, que aumenta la disponibilidad de sustrato lipogénico. Además de la regulación transcripcional del DNL, la insulina también activa de forma aguda el flujo de DNL regulando la fosforilación de las enzimas lipogénicas, aunque las vías específicas de transducción de señales implicadas no se conocen completamente.

La regulación de la síntesis de proteínas por la insulina está mediada en gran medida por la señalización de la rapamicina (mTOR), ésta es una proteína cinasa que, dependiendo de sus componentes de unión puede formar dos complejos funcionales mutuamente excluyentes, mTORC1 y mTORC2. Tanto mTORC1 como mTORC2 interactúan con la cascada de señalización de la insulina, pero los efectos de mTORC1 están mejor estudiados.

La señalización mTORC1 también ejerce una retroalimentación negativa sobre la señalización proximal de la insulina promoviendo la fosforilación de S6K y la desestabilización de IRS1, así como la fosforilación y estabilización de la proteína adaptadora GRB10, que a su vez se une a INSR y lo inhibe.

mTORC1 también regula la síntesis de macromoléculas no proteicas, incluida la fosfatidilcolina, necesaria para la secreción de triglicéridos VLDL. Las principales acciones directas de la insulina sobre el hígado son estimular la síntesis de glucógeno y regular transcripcionalmente la gluconeogénesis, la lipogénesis de novo y el anabolismo proteico.

3.7 Señalización de la insulina por los adipocitos blancos.

La capacidad de la insulina para controlar los niveles plasmáticos de ácidos grasos no esterificados (NEFA) es fundamental para el mantenimiento de la euglucemia; la supresión de la lipólisis es una importante función fisiológica de la insulina en el adipocito blanco. La estimulación del transporte de glucosa es otra función principal de la insulina en el adipocito.

La supresión de los niveles plasmáticos de NEFA por la insulina se produce a través de la rápida inhibición de la lipólisis de triglicéridos en los adipocitos. La insulina es la hormona antilipolítica

más potente y actúa rápidamente. Esta rápida acción se ve facilitada por la corta vida media del NEFA plasmático: 2- 4 min. Los mecanismos mejor comprendidos para la supresión de la lipólisis por la insulina implican la atenuación o inversión de la señalización adrenérgica a través del AMPc y la proteína quinasa A (PKA).

La PKA fosforila dos proteínas clave implicadas en la lipólisis del TAO: la lipasa sensible a hormonas (HSL) y la perilipina (PLIN). La HSL se fosforila en tres residuos de serina terminales del COOH (Ser563, Ser659, Ser660), provocando su translocación desde el citosol a la superficie de las gotas lipídicas.

El control hormonal completo de la tasa lipolítica también requiere la perilipina, la proteína que recubre las gotas lipídicas. Las perilipinas son abundantes y cinco isoformas de PLIN desempeñan funciones específicas para cada tejido. La PLIN1 está altamente expresada en los adipocitos blancos y es fosforilada por la PKA en varios residuos de serina.

3.8 Importancia fisiológica de la acción indirecta de la insulina

El eje adipocito-hepatocito: Desde hace tiempo se sabe que la disponibilidad de sustratos de ácidos grasos puede regular la producción hepática de glucosa.

La lipólisis libera glicerol, que se convierte en glucosa a una velocidad modulada por el redox pero dependiente en gran medida del sustrato. El uso experto de la pinza pancreática de somatostatina, la mejora de las mediciones de las concentraciones hormonales portales frente a las periféricas y el desarrollo de métodos de rastreo para medir el recambio de ácidos grasos y glicerol permitieron finalmente comprender la relevancia fisiológica de estos mecanismos.

Recientemente, Perry y colaboradores (620, 630), utilizando nuevos métodos de cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem para evaluar el contenido hepático de acetil-CoA y las tasas de flujo de la piruvato carboxilasa hepática in vivo, probaron la hipótesis de que la insulina suprime de forma aguda la gluconeogénesis hepática mediante la supresión de la lipólisis del TAO y el contenido hepático de acetil-CoA y la actividad de la piruvato carboxilasa hepática en ratas durante la hiperinsulinemia.

Con pinzas euglucémicas, se demostró que la insulina disminuía rápidamente el recambio de palmitato y glicerol (es decir, la lipólisis), el contenido hepático de acetil CoA, el flujo de piruvato carboxilasa hepática y el HGP hepático en estrecha alineación temporal.

La supresión del flujo de la piruvato carboxilasa hepática y de la HGP por la insulina se anuló por completo si se prevenía esta disminución de la acetil CoA hepática mediante la infusión de acetato, al tiempo que se sustituía el glicerol para igualar las tasas de recambio basales.

En conjunto, las pruebas disponibles apoyan la hipótesis de que la supresión aguda de la gluconeogénesis hepática por la insulina provoca la supresión de la lipólisis del TAO, que disminuye tanto la conversión de glicerol en glucosa como la activación de la acetil CoA de la piruvato carboxilasa.

Los efectos directos de la insulina sobre el HGP serán preponderantes en un hígado rico en glucógeno (alimentado), mientras que los efectos indirectos de la insulina sobre el HGP predominarán en un hígado pobre en glucógeno (en ayunas).

La importancia cuantitativa de este último efecto en los seres humanos queda por explorar, pero es interesante observar que el aumento del HGP de los diabéticos de tipo 2 mal controlados se explica totalmente por el aumento de la gluconeogénesis hepática y no por la glucogénesis hepática neta.

3.9 Efectos periféricos de la acción de la insulina en el SNC

La insulina se transporta a través de la barrera hematoencefálica y tanto las neuronas como las células gliales expresan receptores de insulina. Una función importante de la insulina en el cerebro es la supresión del apetito.

Se ha demostrado que la señalización del SNC regula la acción de la insulina hepática a través de mecanismos independientes del balance energético.

Los mecanismos que vinculan la acción cerebral y periférica de la insulina son imprecisos, pero probablemente estén implicados el flujo de salida simpático y parasimpático y posiblemente el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA).

El cerebro es un lugar de integración de señales para varias hormonas secretadas periféricamente. De éstas, la leptina ha sido de particular interés como adipocina de acción central con efectos pleiotrópicos sobre el equilibrio energético y el metabolismo.

Un mecanismo que se relaciona directamente con el eje adipocito-hepatocito descrito anteriormente se refiere al papel de la leptina en la inanición y la cetoacidosis diabética. La leptina participa en el control del cambio de sustrato de glucosa a ácidos grasos durante la inanición y muestra un efecto hormonal; a bajas concentraciones, suprime la lipólisis impulsada por el eje HPA, pero a altas concentraciones, favorece la lipólisis impulsada por catecolaminas. Un segundo mecanismo clave que contribuye en gran medida al efecto antidiabético del tratamiento crónico con leptina en la DMT1 es la supresión de la secreción de glucagón por la leptina, que puede conseguirse mediante la administración de leptina periférica o en el SNC.

Es importante destacar que la leptina revierte la cetoacidosis diabética hiperglucémica antes de la corrección de la hiperglucagonemia; este efecto agudo se produce por la supresión de la lipólisis impulsada por el eje HPA.

4 Antecedentes particulares

4.2 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina se define como una curva dosis-respuesta de insulina con un aumento de la CE50, con o sin disminución de la respuesta máxima.

En pacientes con resistencia a la Insulina, a un nivel normal de insulina plasmática, los tejidos diana son incapaces de organizar una respuesta coordinada normal de reducción de la glucosa que implique la supresión de la producción endógena de la misma, la supresión de la lipólisis, la captación celular de la glucosa plasmática disponible y la síntesis neta de glucógeno. Esta resistencia a la insulina requiere una mayor secreción de insulina para compensarla, por lo que aumentan los niveles plasmáticos de insulina en ayunas.

Es importante destacar que la resistencia a la insulina no es una desconexión binaria de la señalización de la insulina. Por esta razón, la hiperinsulinemia es un mecanismo compensatorio eficaz que preserva la acción de la insulina en la resistencia a la insulina leve y moderada.

Esto puede deberse a diferentes causas:

- Mutaciones postraduccionales del receptor de insulina, del IRS o de moléculas efectoras requeridas para dichas vías.
- Disminución en el número de receptores de insulina y de su actividad catalítica.
- Incremento de la fosforilación en dominios de Ser/Thr del receptor de insulina y del IRS.
- Aumento en la actividad de fosfatasas de dominios de Tyr, principalmente PTP1B, que participan en la desfosforilación del receptor y del IRS.
- Disminución de la actividad de las cinasas PI3K y Akt.
- Defectos en la expresión y función del GLUT-4.

Todas estas disfunciones disminuyen la incorporación de glucosa en el tejido muscular y adiposo y promueven cambios en el metabolismo.

El circuito de retroalimentación en tiempo real que vincula la sensibilidad a la insulina y la secreción de insulina complica el problema del "huevo o la gallina" de identificar el defecto primario; lo que está claro es que se requieren defectos tanto en los tejidos diana de la insulina como en las células para el desarrollo de la hiperglucemia en ayunas y la DMT2.

Un conjunto diverso de factores bioactivos es capaz de alterar la sensibilidad a la insulina; y aunque estos defectos en la acción tisular de la insulina son reversibles (incluso en pacientes con DMT2) mediante la pérdida de peso y regímenes hipocalóricos, la sobrealimentación continuada en el contexto de la resistencia a la insulina crea un círculo vicioso de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina que culmina en un eventual fallo de las células, probablemente debido a la toxicidad de la glucosa y los lípidos y a otros factores que conducen a la DMT2 manifiesta.

Cuando se demostró que la resistencia a la insulina de la DMT2 humana implicaba tanto una curva dosis-respuesta desplazada a la derecha como una respuesta insulínica máxima aumentada con respecto a la captación de glucosa en todo el cuerpo a pesar de una pérdida <90% del contenido de receptores de superficie, se dedujo que tanto los defectos de los receptores como los de los "postreceptores" contribuían a la resistencia a la insulina.

Como resultado, la hipótesis de que la disminución de los receptores de insulina explica la resistencia a la insulina típica asociada a la obesidad ha dado paso desde hace tiempo a un modelo en el que los defectos de transducción de la señal de insulina son fundamentales.

En los últimos 30 años, tras el descubrimiento de que el INSR es una tirosina quinasa, la mayoría de las investigaciones se han centrado en identificar defectos en la transducción de la señal de insulina. No obstante, está claro que tanto la disminución del contenido superficial de INSR como el deterioro de la transducción de la señal de insulina contribuyen a la resistencia a la insulina típica asociada a la obesidad.

La liberación de sustancias como las citocinas proinflamatorias, los ácidos grasos saturados (AGS), algunos aminoácidos, la endotelina 1, la angiotensina II (Ang II) y los estados de hiperinsulinemia incrementan la función de las cinasas, que fosforilan al IRS. Se ha documentado la relevancia del aumento en la fosforilación de las proteínas IRS en pacientes obesos, en donde la expresión del IRS-1 disminuye aproximadamente un 54%; es decir aumenta la degradación de los IRS.

4.3 Fisiopatología de la resistencia a la Insulina

Como se mencionó anteriormente, los tres tejidos diana de la acción de la insulina son el músculo, el hígado y el tejido adiposo.

4.3.2 Resistencia del Músculo esquelético

El músculo es el principal sitio de eliminación de glucosa, participa hasta en el 70% de la captación de ésta en los tejidos. Posterior a una alta ingesta calórica, la captación de glucosa por parte del músculo excede su capacidad y el resto regresa al hígado promoviendo la lipogénesis de novo cuyo efecto es la producción de triglicéridos y ácidos grasos no esterificados que contribuyen aún más a la deposición de grasa ectópica. Como respuesta, aumenta la resistencia a la insulina, así como la producción de marcadores inflamatorios. Este ciclo puede ser modificado por otros elementos como la actividad física y el riesgo genético.

Posterior a la ingesta calórica, la insulina reduce la producción de glucosa hepática inhibiendo la glucogenólisis, lo que controla el aumento posprandial de glucosa. Con la resistencia a la insulina, este mecanismo de retroalimentación se altera y la producción de glucosa hepática no cesa, incluso cuando aumenta la glucosa posprandial. La glucotoxicidad, contribuye aún más a la resistencia a la insulina.

La función principal de la insulina en el músculo esquelético es promover la captación celular de glucosa, un proceso controlado por la translocación de GLUT4. La captación de glucosa muscular estimulada por la insulina es muy susceptible a la resistencia a la insulina y es uno de los principales componentes de la resistencia a la insulina típica asociada a la obesidad y DM2.

El músculo esquelético es uno de los principales lugares de eliminación de glucosa estimulada por la insulina (70-80% durante un pinzamiento euglucémico hiperinsulinémico, aunque sólo un 25-30% en el estado posprandial).

Las mediciones de las concentraciones intracelulares de glucosa y G6P revelaron que el principal paso responsable de la síntesis de glucógeno muscular estimulada por la insulina en pacientes diabéticos era el transporte de glucosa.

A nivel muscular los defectos afectan a la cascada de transducción de señales que vincula la unión insulina-INSR y la translocación de GLUT4. La resistencia a la insulina del músculo esquelético es atribuible a defectos en los niveles más proximales de la señalización de la insulina: INSR, IRS1, PI3K y actividad AKT.

La disminución de la estimulación por insulina de la actividad PI3K asociada a IRS1 también se observa de forma reproducible en la resistencia muscular a la insulina, ya sea de forma aguda o crónica.

Aunque es probable que la resistencia a la insulina implique una desregulación de múltiples efectores de señalización, también es posible que los defectos de señalización proximal basten para explicar todo el deterioro de la estimulación de la glucosa por la insulina.

4.3.3 Resistencia Hepática a la insulina

La acción de la insulina hepática afecta al metabolismo de todos los macronutrientes. Tiene componentes agudos y crónicos, directos e indirectos. La insulina, en combinación con un suministro adecuado de sustrato, coordina un cambio de la producción neta de glucosa a la captación neta de glucosa en el hígado. Esto implica la supresión coordinada de la gluconeogénesis y la glucogenólisis, y la activación de la síntesis de glucógeno.

Las tasas de gluconeogénesis hepática aumentan en la DMT2 y son la causa de la hiperglucemia en ayunas que define la enfermedad. Pero dado que la gluconeogénesis está regulada por diversos mecanismos (p. ej., alostéricos, redox, impulsados por sustratos, transcripcionales, postraduccionales), no se deduce necesariamente que los efectos hepatocelulares directos de la insulina sobre la gluconeogénesis estén desregulados en la DMT2.

La supresión crónica de la gluconeogénesis por la insulina, mejor observada en estudios de ayuno que en estudios de estimulación aguda por insulina, es un efecto hepatocelular directo mediado por la inhibición de los factores de transcripción FOXO, especialmente FOXO1. Se ha observado que la expresión del ARNm y la localización nuclear de FOXO1 (un indicador de actividad) aumentan en los seres humanos con esteatohepatitis no alcohólica, en correlación con la puntuación del modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina (HOMA-IR). Además, la anulación del receptor hepático de insulina se asocia a una actividad desenfrenada de FOXO1, que es necesaria y suficiente para impulsar la gluconeogénesis patológica.

Las mediciones de MRS del contenido de glucógeno hepático revelaron que la DMT2 se asociaba a un menor contenido de glucógeno postprandial a las 4 h, lo que sugiere un defecto en la síntesis de glucógeno. También presentaban un menor contenido de glucógeno hepático en ayunas, así como una menor síntesis de glucógeno tanto en condiciones posprandiales como en condiciones de pinzamiento hiperinsulinémicohiperglucémico. Es decir, la glucogenólisis está disminuida y suprimida de forma incompleta por la insulina en personas con DMT2.

Un último componente importante de la resistencia hepática a la insulina, relacionado con los INSR, es la disminución del aclaramiento hepático de insulina. Aunque los determinantes moleculares de este fenómeno no se conocen del todo, el contenido reducido de INSR en la superficie celular observado en los hepatocitos resistentes a la insulina puede implicar a reguladores de la reserva de INSR en la superficie, como CEACAM1, MARCH1, CHIP y p31.

Independientemente del mecanismo, el efecto neto de la disminución del aclaramiento hepático de insulina es promover la hiperinsulinemia. Por ello, la concentración plasmática de insulina en ayunas se utiliza a menudo como indicador general de la sensibilidad hepática a la insulina en algoritmos como el HOMA-IR y el índice cuantitativo de comprobación de la sensibilidad a la

insulina (QUICK-I), con las advertencias obvias de que la función de las células β y la sensibilidad periférica a la insulina también contribuyen al circuito glucosainsulina plasmática.

En resumen, la resistencia a la insulina en el hígado es atribuible a defectos a nivel del receptor de insulina y, por tanto, probablemente afecta a todas las ramas de la señalización hepatocelular de la insulina. El impacto funcional variable de la resistencia a la insulina hepática en los diferentes brazos de señalización no es sorprendente, dadas las entradas variadas y complejas a cada brazo. Los indicadores fisiológicos más populares de la resistencia a la insulina hepática, la supresión de la HGP y la insuficiencia plasmática en ayunas, tienen componentes directos e indirectos y, por lo tanto, son evaluaciones imperfectas de la acción de la insulina hepatocelular.

Sin embargo, estos valores se seguirán utilizando ampliamente, especialmente en estudios en humanos, porque 1) pueden determinarse de forma no invasiva y 2) ofrecen una imagen integrada útil de los componentes directos e indirectos de la acción de la insulina hepática.

4.3.4 Resistencia adiposa a la insulina

La actividad de la tirosina cinasa del receptor adiposo de insulina está disminuida en los humanos con DMT2. Este defecto, junto con la disminución de los receptores de insulina de la membrana plasmática, puede ser suficiente desde el punto de vista de la señalización para explicar las manifestaciones de la DMT2. La pérdida de peso corrige tanto la resistencia a la insulina adiposa como la actividad IRK adipocitaria defectuosa.

El adipocito realiza la captación de glucosa estimulada por la insulina; al igual que en el músculo esquelético, esta función se vuelve resistente en la obesidad y la DMT2. Sin embargo, el adipocito blanco no es un lugar cuantitativamente significativo de eliminación de glucosa estimulada por insulina, ya que representa <5% de una carga oral de glucosa.

Los efectos globales de sensibilización a la insulina de la captación de glucosa por los adipocitos pueden medirse parcialmente mediante la activación de ChREBP por la glucosa. La activación del ChREBP promueve la expresión de genes lipogénicos, lo que permite que el tejido adiposo actúe como colector de nutrientes y, a su vez, disminuya el aporte de sustrato al hígado y al músculo. La captación de glucosa por los adipocitos también genera glicerol-3-fosfato.

Ello facilita el almacenamiento de lípidos eutópicos en el adipocito y disminuye el transporte de lípidos al hígado y al músculo. Fisiológicamente, una función extremadamente significativa de la acción de la insulina en el adipocito es la supresión de la lipólisis. El efecto supresor es rápido (~10 min). Puesto que la principal fuente de NEFA plasmático es el tejido adiposo, ya que la liberación de sustrato lipolítico es un regulador crítico de la gluconeogénesis hepática minuto a minuto, y

puesto que el aumento de la gluconeogénesis es un factor clave de la hiperglucemia en ayunas que define la DMT2, la resistencia a la insulina es un factor clave de la hiperglucemia en ayunas que define la DMT2.

Es importante destacar que la obesidad per se no se correlaciona con la concentración plasmática de NEFA, lo que indica que un defecto funcional (es decir, la resistencia a la insulina de los adipocitos), y no un simple efecto de masa, media el aumento de NEFA plasmático de la DMT2.

La resistencia a la insulina adiposa, evaluada como el producto de la insulina plasmática en ayunas y las concentraciones plasmáticas de NEFA en ayunas, aumentó continuamente en la progresión de la tolerancia normal a la glucosa a la intolerancia a la glucosa y a la DMT2 en una cohorte de más de 300 sujetos, lo que sugiere que la resistencia a la insulina adiposa contribuye a la patogénesis de la DMT2.

La captación de glucosa estimulada por la insulina promueve la glucólisis, produciendo los precursores de tres carbonos que pueden producir glicerol-3-fosfato. A su vez, el glicerol-3-fosfato es necesario para la esterificación de los ácidos grasos y el almacenamiento adecuado de lípidos estimulado por la insulina. La resistencia de la insulina a la captación de glucosa podría impedir por este mecanismo que el adipocito pasara de la exportación neta de lípidos al almacenamiento neto de lípidos tras la estimulación de la insulina. De este modo, la exquisita sensibilidad del adipocito blanco a la insulina puede ser un arma de doble filo. Esta sensibilidad permite un almacenamiento de nutrientes posprandial ágil y adecuado. Sin embargo, el hecho de que el adipocito sea el "primero en responder" al exceso nutricional puede hacerlo vulnerable a la resistencia a la insulina inducida por el estrés nutricional. Incluso una modesta resistencia a la insulina de los adipocitos, debido a la inclinación de la curva dosis-respuesta de la insulina para la supresión lipolítica, aumentará el aporte de ácidos grasos al hígado y al músculo esquelético y, por tanto, promoverá la resistencia a la insulina en esos tejidos.

4.3.5 Mecanismos fisiológicos integrados de la resistencia a la Insulina

La obesidad se caracteriza por la expansión del tejido adiposo; tanto la hiperplasia como la hipertrofia de los adipocitos contribuyen a este efecto. Esta expansión implica un estrés homeostático y se asocia a un aumento de la muerte celular de los adipocitos.

Las señales quimiotácticas de los adipocitos estresados reclutan macrófagos derivados de la médula ósea. Estos macrófagos del tejido adiposo (ATM) se depositan en "estructuras en forma de corona" alrededor de los adipocitos muertos y secretan citocinas con efectos autocrinos, paracrinos y endocrinos. Los ATM estimulados por la obesidad muestran patrones de activación

característicos que difieren de los observados en los macrófagos activados clásicamente ("polarizados M1") en respuesta, por ejemplo, a una infección bacteriana.

Los adipocitos activados metabólicamente exocitan los lisosomas para ayudar a eliminar los adipocitos muertos y emplean un programa transcripcional impulsado por PPAR- γ para amortiguar el exceso de ácidos grasos. De este modo, la inflamación crónica es el trastorno desadaptativo asociado a la resistencia a la insulina.

La obesidad es un estado inflamatorio crónico que altera la homeostasis metabólica. El modelo básico de resistencia a la insulina inducida por la inflamación es un modelo de "dos golpes" en el que la activación de los macrófagos va seguida de la elaboración por parte de éstos de factores parácrinos y/o endócrinos que inducen resistencia a la insulina en células diana como los adipocitos o los hepatocitos.

4.4 Presentación clínica de la Resistencia a la insulina

El cuadro clínico por lo regular es asintomático, depende el tiempo de evolución de la condición, el grado de funcionalidad de las células beta y la predisposición del individuo a las comorbilidades debido a la resistencia a la insulina. Se presenta:

- Obesidad, hipertensión o hiperlipidemia.
- Síndrome metabólico
- Prediabetes o diabetes mellitus tipo 2.
- Enfermedad microvascular sintomática (retinopatía, neuropatía o nefropatía).
- Enfermedad macrovascular (accidente cerebrovascular, PAD y CAD)
- SOP
- Acantosis nigricans.

4.5 Diagnóstico

El estándar de oro para la medición de la resistencia a la insulina es la técnica de la pinza euglucémica – hiperinsulinémica, donde el sujeto de estudio recibe en ayunas una infusión constante de insulina a alta velocidad para suprimir la producción de glucosa hepática; los niveles de glucosa en sangre se controlan mediante la administración de una solución de dextrosa al 20% a diferentes velocidades para mantener la glucosa sanguínea en un nivel euglucémico.

La cantidad de glucosa requerida para alcanzar un estado estacionario refleja la eliminación de glucosa exógena necesaria para compensar la hiperinsulinemia. El cálculo de la resistencia a la insulina se basa en la disposición de glucosa de todo el cuerpo y el tamaño corporal.

Ésta es una técnica compleja de investigación. A partir de éste principio se han analizado diferentes marcadores con el desarrollo y aplicación de metodologías cada vez más sensibles.

Ejemplo de ello son los índices HOMA-IR y HOMA2, basados en los niveles de glucosa e insulina en ayunas, ambos son ampliamente utilizadas en la investigación clínica. Otras técnicas incluyen la relación glucosa/insulina (GIR) y el índice cuantitativo de sensibilidad a la insulina (QUICKI). El índice de McAuley utiliza insulina y triglicéridos en ayunas. Las pruebas de estimulación realizadas después de un ayuno nocturno, miden la respuesta de la insulina y la glucosa a una carga de glucosa de 75 g. Los métodos incluyen el índice de Matsuda y el índice de sensibilidad a la insulina (ISI).

Otros marcadores indirectos incluyen la cuantificación de triglicéridos solos o en relación con el colesterol HDL. Las personas con prediabetes y mediciones de triglicéridos mayores o iguales a 150 g/dl presentan mayor probabilidad de tener resistencia a la insulina. La relación triglicéridos/HDL se correlaciona con la resistencia a la insulina en personas caucásicas. Genéricamente, una relación superior a 3,0 se asocia con IR. Particularmente, una relación mayor o igual a 3,5 en hombres y mayor o igual a 2,5 en mujeres indica resistencia a la insulina. Sin embargo estas relaciones no se mantienen en personas afroamericanas.

Las técnicas de laboratorio para determinar resistencia a la insulina no se han estandarizado en las guías clínicas. En consecuencia, la presencia de resistencia a la insulina se deduce del cuadro clínico.

El Síndrome Metabólico (MetS) y el Síndrome de Resistencia a la Insulina (IRS) se consideran indicadores clínicos de resistencia a la insulina.

El Síndrome Metabólico (MetS) se establece con la identificación de 3 o más de los siguientes puntos de corte de diagnóstico:

- Circunferencia de cintura de 32" a 40" (según sexo y raza).
- Triglicéridos mayores o iguales a 150 mg/dL.
- HDL menor de 40 mg/ dL en hombres y menor de 50 mg/ dL en mujeres.
- Presión arterial sistólica mayor o igual a 130 mmHg y diastólica mayor o igual a 85 mmHg.
- Glucosa en ayunas mayor o igual a 100 mg/dL.

El Colegio Americano de Endocrinología identifica como anomalías fisiológicas específicas que aumentan el riesgo de síndrome de resistencia a la insulina a:

- Alteración de la tolerancia a la glucosa o alteración de la glucosa en ayunas.

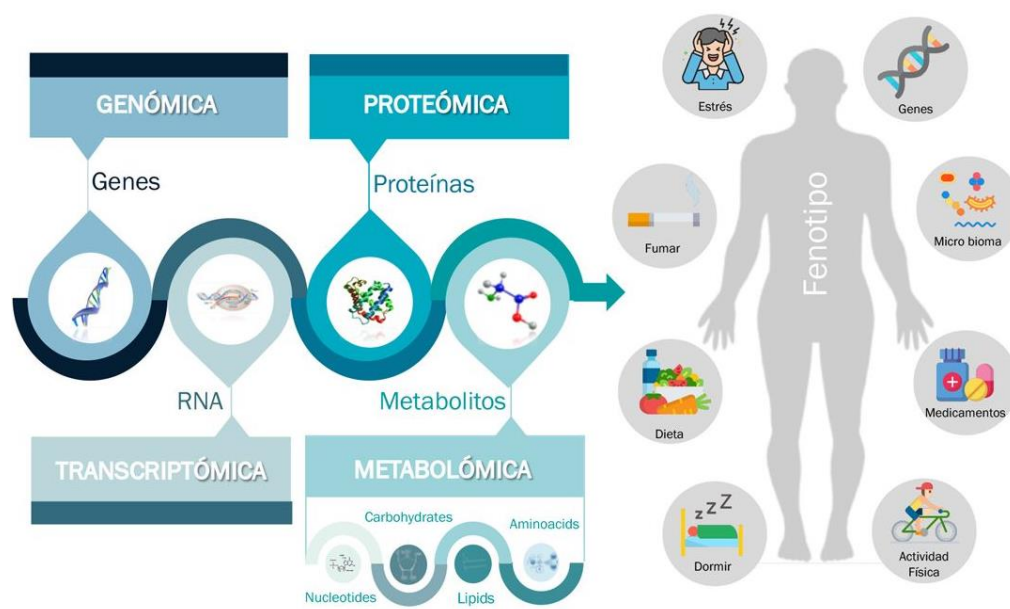
- Metabolismo anormal del ácido úrico.
- Dislipidemia.
- Cambios hemodinámicos como presión arterial elevada.
- Factores protrombóticos (PAI-1, fibrinógeno)
- Marcadores de inflamación (CRP, WBC, etc.)
- Disfunción endotelial

Otros factores:

- Índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 25 kg/m².
- Diagnóstico de CVD, PCOS, NAFLD o acantosis nigricans.
- Antecedentes familiares de DM2, hipertensión o ECV.
- Estilo de vida sedentario.
- Etnia no caucásica.
- Edad mayor de 40 años.

4.6 Metabolómica

La metabolómica es la ómica más novedosa y se asienta en el análisis de metabolitos de bajo peso molecular (<1500 Da) implicados en un proceso biológico. Su propósito es la detección, especificidad y medida la estructura de los metabolitos; la cual es diversa tanto física como químicamente.



Universidad de los Andes | Vigilada Mineducación. <https://metcore.uniandes.edu.co/es/acerca-de-metabolomica>

Ésta heterogeneidad de estructuras químicas se expone en una vasta gama de propiedades como la polaridad, el peso molecular, grupo funcional, estabilidad y reactividad química, entre otras.

Se diferenciaron también los metabolitos en dos grupos:

- Endógenos: son originados fisiológicamente por un organismo, por ejemplo, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, azúcares, vitaminas, cofactores, pigmentos, etc.
- Exógenos: proceden de la interacción del organismo con el exterior, por ejemplo, fármacos, contaminantes ambientales, aditivos alimentarios, toxinas y otros xenobióticos.

4.6.2 ¿Por qué estudiar los metabolitos?

Los metabolitos participan en los procesos bioquímicos como intermedios y subproducto de actividades metabólicas, constituyen la conclusión de los procesos celulares y son componentes básicos de las proteínas, el ARN, el ADN y las membranas celulares. Por lo que su identificación y

cuantificación pueden ofrecer información sobre el funcionamiento del organismo así como de las interacciones de los factores biológicos y ambientales que contribuyen al fenotipo.

Las dos plataformas tecnológicas más utilizadas para la identificación y cuantificación de metabolitos son: la resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas (MS), esta última usualmente acoplada a técnicas cromatográficas como cromatografía líquida (LC-MS), cromatografía de gases (GC-MS), o en menor medida la electroforesis capilar (CE-MS). Estas plataformas tienen el reto de ofrecer la cobertura del metaboloma analizado a causa de la compleja naturaleza química de los metabolitos.

Tabla 1. Plataformas tecnológicas más utilizadas para identificar y cuantificar metabolitos: ventajas y limitaciones

Plataforma	Ventajas	Limitaciones
GC-MS	Alta reproducibilidad y sensibilidad analítica Facilidad en la identificación de metabolitos	Solo aplicable a compuestos volátiles y térmicamente estables
LC-MS	Ofrece muchas variantes cromatográficas (por ej., RP-C18, HILIC, etc.) Gran cobertura de metabolitos detectados Alta sensibilidad	Importantes requerimientos bioinformáticos para el procesamiento de datos La identificación de metabolitos no es directa
CE-MS	Consume muy poca cantidad de muestra	Solo aplicable a compuestos polares cargados Limitada robustez y reproducibilidad analítica
RMN	Altamente cuantitativa y reproducible Mínima preparación de la muestra	Poca sensibilidad
MALDI	Permite estudiar la localización de compuestos en tejidos biológicos con resolución de hasta 10 µm Análisis muy rápidos	Poco cuantitativa y reproducible

MS: espectrometría de masas; GC-MS: cromatografía de gases asociada a MS; LC-MS: cromatografía líquida asociada a MS; CE-MS: electroforesis capilar asociada a MS; RMN: resonancia magnética nuclear; MALDI (por sus siglas en inglés, *matrix-assisted laser desorption/ionization*): matriz orgánica para ionizar analitos mediante irradiación por láser.

Yanes O (2014). Metabolómica: la ciencia ómica más multidisciplinaria. 09 de diciembre del 2019, de SEBBM. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular.

Tras esta breve introducción, se puede inferir que la metabolómica es una ciencia que nos enfrenta a una complejidad de procesos químico, analítico y computacional; que le confiere un carácter multidisciplinario ya que requiere los conocimientos de ingeniería electrónica para el procesamiento de señales espectrales, química analítica y orgánica para la detección y caracterización de metabolitos, bioestadística y física estadística para el análisis de datos, bioquímica y medicina para la interpretación biológica de estos.



Universidad de los Andes | Vigilada Mineducación. <https://metcore.uniandes.edu.co/es/acerca-de-metabolomica>

4.7 Cromatografía líquida

La historia de la Cromatografía líquida (CL) comienza a principios del siglo XX. En 1906, el botánico ruso Mikhail Tswett inventó CL para separar varios pigmentos de plantas.

50 años después, tras la búsqueda de mayor rapidez, especificidad, sensibilidad y rendimiento de la técnica, se introduce el término HPLC, cuya diferencia respecto a los equipos anteriores era la presión del disolvente (400bar), el término HPLC es el acrónimo de HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY, ALTO RENDIMIENTO.

El sistema de detección fue también uno de los mayores avances pasando de los ojos a técnicas espectroscópicas (UV-VIS, IR, FLD) y primeros MS. A la par aparece también la FLASH LC (1978) basada en la cromatografía clásica de columna pero presurizando el solvente (a baja presión, ~ 10-20bar) y acoplándola también a los nuevos detectores y recolectores de fracciones para técnicas preparativas.

Desde su introducción como técnica analítica en los años 1970, la HPLC ha evolucionado y adquirido mayor eficiencia, incrementando la sensibilidad y la velocidad de los análisis.

Los principales puntos en el avance tecnológicos son:

- Partículas cada vez más pequeñas y con soportes de mejor calidad.
- Introducción de otros tipos de columnas - monolíticas, núcleo sólido y superficie porosa.
- Utilización de nuevos instrumentos de mayor robustez y resistencia
- Introducción de los sistemas de bajo flujo NanoLC, CapillaryLC, (CEC).
- Uso de altas temperaturas.
- 2D LC.

Las partículas más pequeñas permiten una menor altura de plato teórico mostrando así una mayor resolución cromatográfica.

La resolución cromatográfica sufre menos al incrementar el flujo cuanto más pequeña es la partícula.

5 Justificación

El test Quantose™ IR para medir la resistencia a la insulina está validado para predecir el riesgo de progresión a la alteración de glucosa en ayunas en un plazo de tres años. El valor obtenido de la prueba fue desarrollado para estimar el clamp euglicémico hiperinsulinémico que es considerado el estándar de oro para determinar la sensibilidad a la insulina. Sin embargo a pesar de ser test altamente sensible para la determinación temprana del riesgo de pre diabetes o diabetes, así como otras condiciones cardiovasculares, no está aún estandarizado su uso en las guías de práctica médica. Las recomendaciones con respecto a la frecuencia del análisis para optimizar su valor preventivo, de diagnóstico o seguimiento como es natural están enfocadas a personas con factores de riesgo y resultados positivos. Sin embargo existe población que presenta factores de riesgo con puntajes negativos para quienes también es importante emitir recomendaciones con respecto a la interpretación y uso del test para el mayor beneficio con respecto a su salud.

6 Definición del problema

Las recomendaciones con respecto a la frecuencia del test de Quantose RI para optimizar su valor preventivo, de diagnóstico o seguimiento aún no están estandarizadas en las guías de práctica médica. En personas que presentan factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, con puntajes negativos no existen recomendaciones con respecto a la interpretación y frecuencia de aplicación del test para optimizar el valor de la prueba.

6.2 Pregunta de investigación

¿Con qué frecuencia se debería realizar Quantose RI™ en población de riesgo para optimizar el valor preventivo y de diagnóstico de resistencia a la Insulina?

7 Hipótesis

Hipótesis nula

El realizar Quantose RI anualmente en pacientes con factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares con puntaje negativo previo para resistencia a la insulina, como prueba de tamizaje, logra el objetivo de intervención médica temprana.

Hipótesis alterna

Los paciente con factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, aún con puntaje negativo para resistencia a la insulina requieren vigilancia estrecha antes de un año con la prueba de Quantose RI para lograr una intervención médica temprana.

8 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el comportamiento de las concentraciones de los analitos del panel de biomarcadores del algoritmo de la prueba de Quantose IR en pacientes con progresión de un estado de sensibilidad a la insulina a un estado de resistencia en menos de 1 año en un laboratorio privado de la Ciudad de Puebla en el periodo comprendido de junio de 2018 a marzo 2022.

Objetivos específicos

- Determinar la presencia de casos de progresión de un estado de sensibilidad a la insulina a un estado de resistencia en menos de 1 año por medio del estudio de Quantose RI.
- Evaluar los valores de las concentraciones de los analitos de los biomarcadores del algoritmo de la prueba de Quantose RI cuando presentaron el puntaje inicial NEGATIVO.
- Evaluar los valores de las concentraciones de los analitos de los biomarcadores del algoritmo de la prueba de Quantose RI cuando presentaron el puntaje de seguimiento POSITIVO.
- Analizar la relación entre las concentraciones de los analitos: Insulina, AHB, LGPC y AO; entre la primera y la segunda medición.
- Correlacionar los valores de las concentraciones de los analitos: Insulina, AHB, LGPC y AO con respecto a su asociación positiva o negativa con la resistencia a la insulina, tolerancia a la glucosa o disfunción de la célula B.

9 Material y métodos

Diseño de estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, observacional, retrospectivo, transversal.

Universo de trabajo

Fuente: Base de datos de resultados de pacientes que se realizaron la prueba de Quantose RI en Laboratorios Ruiz.

Población elegible: Pacientes que contaban con al menos 2 resultados en 1 año.

Población muestral: Pacientes que contaban con el primer resultado NEGATIVO para resistencia a la Insulina y con el segundo resultado POSITIVO.

Se seleccionaron todos los expedientes electrónicos de los pacientes que se realizaron la prueba de Quantose RI en Laboratorios Ruiz desde junio de 2018, fecha a partir de la cual existe registro de esta prueba en el software hasta marzo 2022, fecha en la que se culminó esta investigación.

Criterios de inclusión

- Expedientes con reportes de laboratorio electrónicos de pacientes que solicitaron la prueba de Quantose RI.
- Todas las edades registradas en el periodo de interés para el estudio, a partir de 9 años.
- Género masculino o femenino.

Criterios de exclusión

- Expedientes incompletos en las variables de interés.

Criterios de eliminación

- Pacientes sin el antecedente de primer resultado Negativo para resistencia a la insulina.

Ubicación espacio temporal

Este estudio se llevó a cabo en Laboratorios Ruiz desde junio de 2018 hasta marzo 2022.

Estrategia de muestreo

Un total de 44 513 expedientes con reporte de laboratorio fueron incluidos en el análisis estadístico. Todo el Universo disponible fue explorado. No se realizó cálculo para tamaño de la muestra: se estudiaron casos consecutivos por conveniencia.

Se definió la presencia de resistencia a la insulina cuando el valor de Quantose™ IR era superior a 63.

Se seleccionaron pacientes con al menos 2 mediciones en diferentes tiempos en el intervalo de 1 año y que la primera fuese con una puntuación de Sensibilidad a la insulina igual o menor a 63.

Se clasificaron resultados por sexo y por grupo de edad: 9 a 18 años. 19 a 44 años y 45 años o más.

Los resultados se obtuvieron de mediciones de muestras de plasma por Quantose IR™ y quimioluminiscencia.

Se consideró obesidad según IMC igual o mayor a 30 y sobrepeso con IMC mayor o igual a 25 y menor de 30.

10 Definición de variables y escalas de medición.

Variable	Tipo de Variable	Definición operacional	Escala de medición	Tipo de variable	Indicadores
Edad	Cuantitativa continua	Reportado en el expediente	Razón	Independiente	Años
Índice de Masa Corporal	Cuantitativa continua	Calculado usando peso y estatura del individuo mediante la fórmula: IMC= Peso/Altura ²	Razón	Independiente	kg/m ²
Resistencia a la insulina	Cuantitativa continua	Calculado por un algoritmo a partir de las concentraciones de un panel de biomarcadores que comprende un ácido orgánico (ácido alfa-hidroxibutírico), dos lípidos (ácido oleico y linoleoilglicerofosfolina) y la insulina; que genera una puntuación en una escala de 1-120 para estimar el valor obtenido del Clamp hiperinsulinémico-euglucémico.	Razón	Independiente	Puntaje

Sexo	Cualitativa	Diferenciación sexual del paciente	Nominal Dicotómica.		Mujer Hombre Registrado en expediente electrónico.
Insulina	Cuantitativa continua	Inmunoquimioluminiscencia	Razón	Independiente	uU/mL
Ácido alfa hidroxibutírico (AHB)	Cuantitativa continua	Espectrometría de masas/cromatografía líquida	Razón	Independiente	Ug/mL
Ácido oleico	Cuantitativa continua	Espectrometría de masas/cromatografía líquida	Razón	Independiente	Ug/mL
Ácido linoleoilglicerofosfolina (LGPC)	Cuantitativa continua	Espectrometría de masas/cromatografía líquida	Razón	Independiente	Ug/mL

11 Recolección de la información

Con respecto a la recolección de la información de la población de estudio, se planteó el proyecto al área de enseñanza y por medio de su autorización se gestionó el apoyo al departamento de sistemas para acceder a la base de datos de todos los resultados de la prueba de Quantose RI realizados en el laboratorio.

También se solicitó información al departamento de Metabolómica quien brindó acceso al concentrado de información sobre las mediciones de los analitos.

De la información que proporcionada se clasificó por expediente, fecha de estudio, se rastreó a cada paciente de interés, se consultó su información demográfica y resultados en el sistema a partir de su expediente electrónico de laboratorio, posteriormente se integró una nueva base de datos con los resultados de los biomarcadores de la prueba para su análisis estadístico.

En este proyecto se utilizaron las siguientes fuentes de información:

- Fuentes primarias: se consultaron libros, revistas científicas y documentos oficiales de instituciones públicas.
- Fuentes secundarias: se consultó la base de datos en línea de los pacientes incluidos en el estudio, sitios web de instituciones oficiales.
- Fuentes terciarias: se consultaron buscadores de información científica como Medscape, ELSEVIER, PUBMED, Medes y IMBIOMED.

12 Tratamiento estadístico de los datos

Se llevó a cabo análisis descriptivo con medidas de tendencia central, de dispersión y rangos de variables cuantitativas; así como frecuencias y proporciones de las variables cualitativas.

Recursos Humanos

Dra. Ana Victoria Rodríguez Sifriano. Médico Residente de tercer año de la Especialidad en Patología Clínica y responsable de la investigación.

Dra. Briceida López Martínez. Médico Patólogo Clínico y asesor principal en la metodología de la investigación.

Ing. Alin Vera del Razo. Supervisor del área de metabolómica, colaborador y orientador con aspectos relacionados a la metodología de la prueba de Quantose RI, así como en la interpretación de los resultados.

Materiales

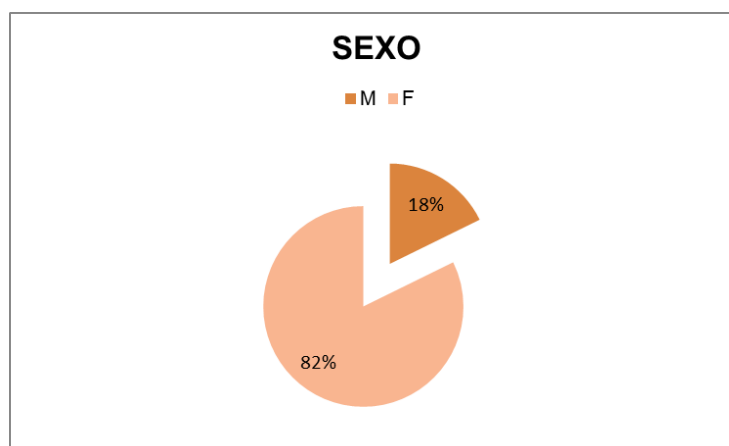
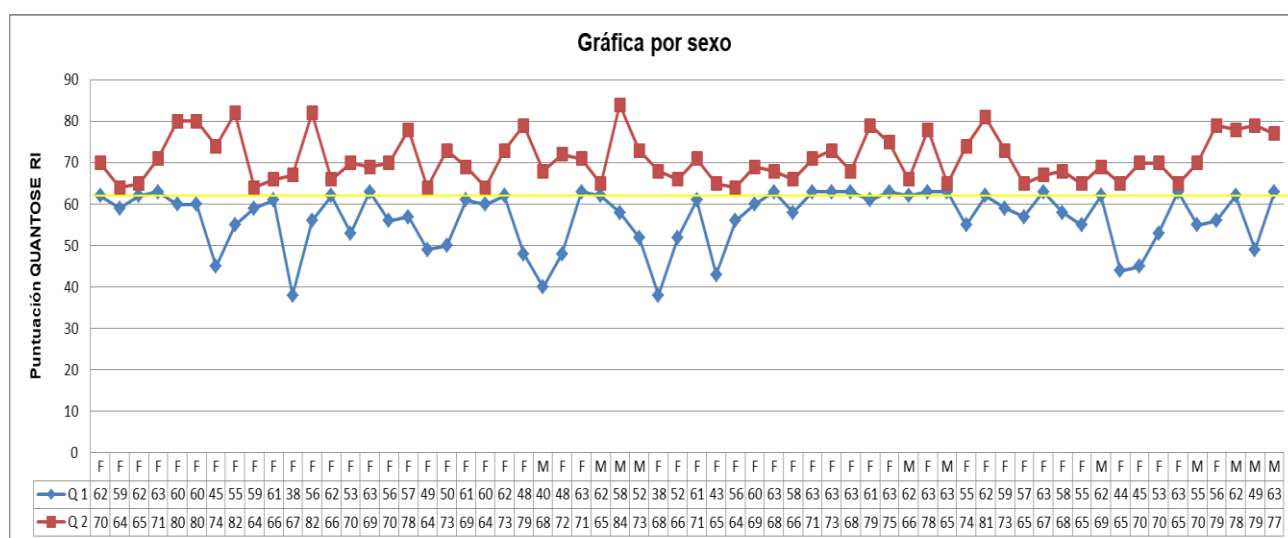
- Bases de datos de laboratorio como reportes de laboratorio de patología.
- Computadora Dell.
- Hojas blancas

Plan de difusión y publicación de resultados

- Presentación de tesis con motivo de obtener el Título de Médico Especialista en Patología Clínica por la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla.

12.8 Resultados

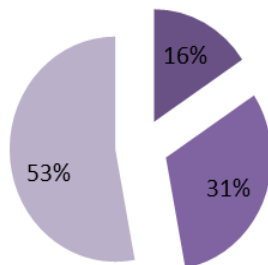
12.8.1 Resistencia a la insulina detectada en pacientes con mediciones de Quantose IR con intervalo < 6 = a 1 año, datos por sexo.



62 pacientes que presentaron un primer score menor o igual a un puntaje de 63 considerado como sensible a la Insulina, con un posterior score mayor a 63 dentro de un intervalo de tiempo menor o igual a 1 año. De los pacientes estudiados, el 82% representa a la población femenina y el 18% a la población masculina.

SEXO FEMENINO POR GRUPO DE EDAD

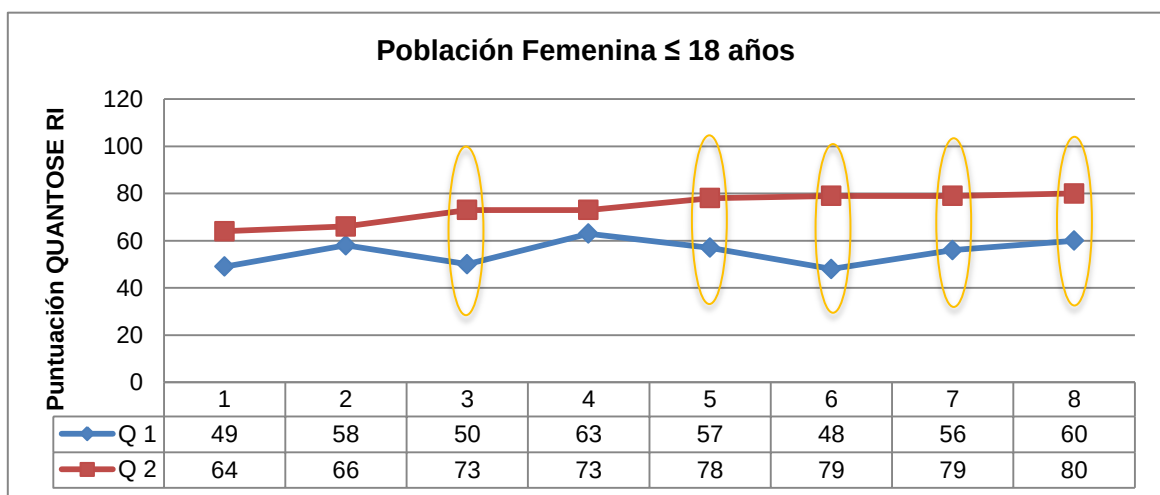
■ ≤ 18 años ■ 19 a < 40 años ■ ≥ 40 años



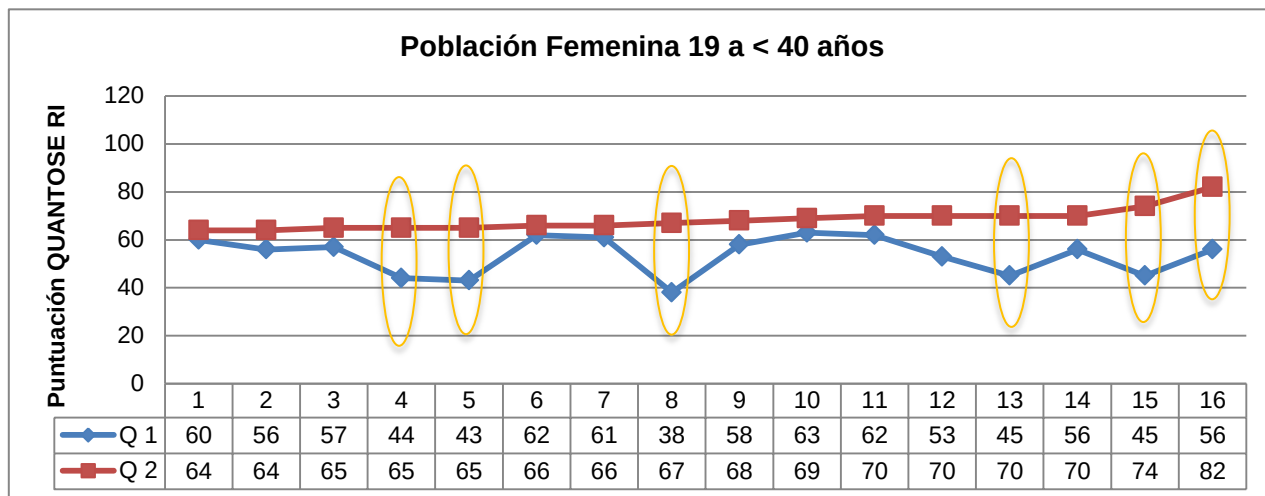
Dentro de la población femenina, por grupo de edad, el 16% de las pacientes tiene ≤ 18 años, el 31% de 19 a <40 años y el 53% ≥ 40 años.

La población masculina fue menos heterogénea con respecto a la edad, ya que no hubo pacientes adolescentes, el total de pacientes fueron adultos en un rango de edad de 32 a 60 años.

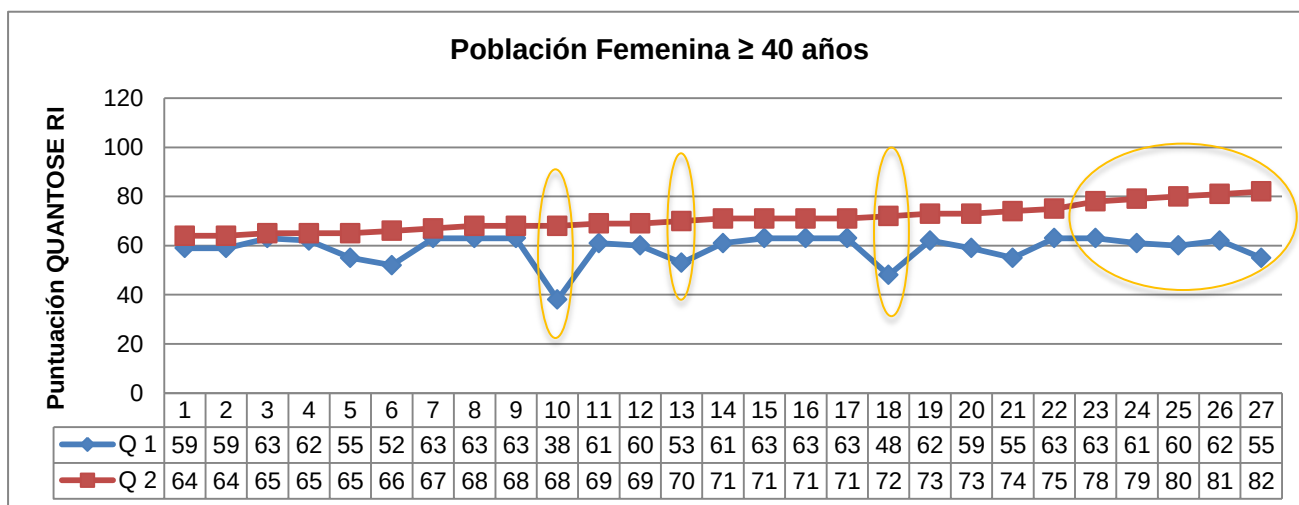
12.8.2 Resistencia a la insulina detectada en población Femenina ≤ 18 años con mediciones de Quantose IR con intervalo < ó = a 1 año.



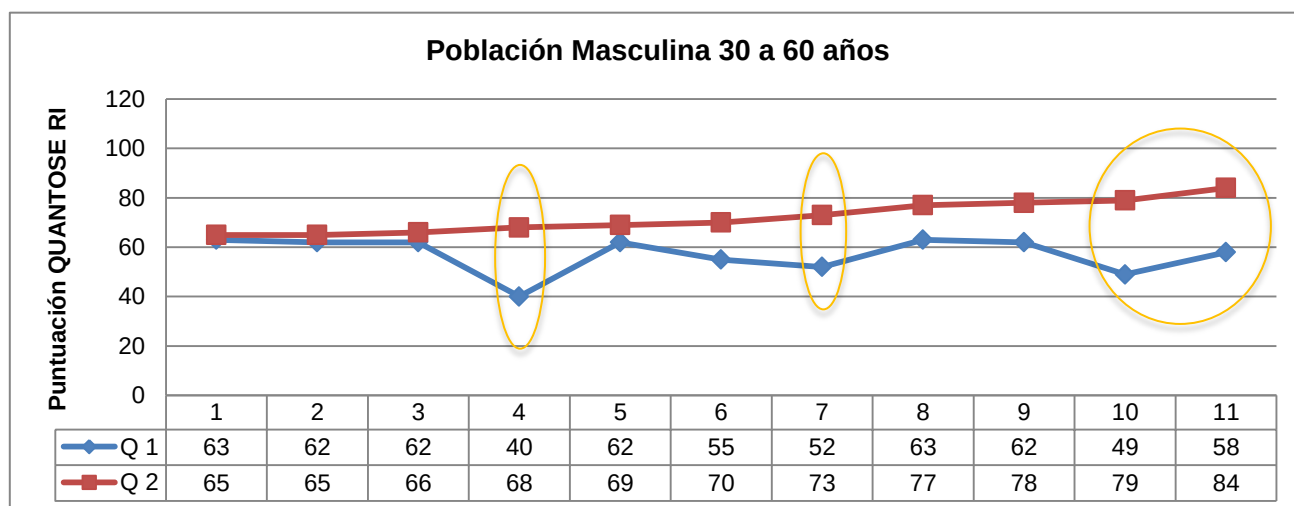
12.8.3 Resistencia a la insulina detectada en población Femenina 19 a <40 años con mediciones de Quantose IR con intervalo < 6 = a 1 año.



12.8.4 Resistencia a la insulina detectada en población Femenina ≥ 40 años con mediciones de Quantose IR con intervalo < 6 = a 1 año.

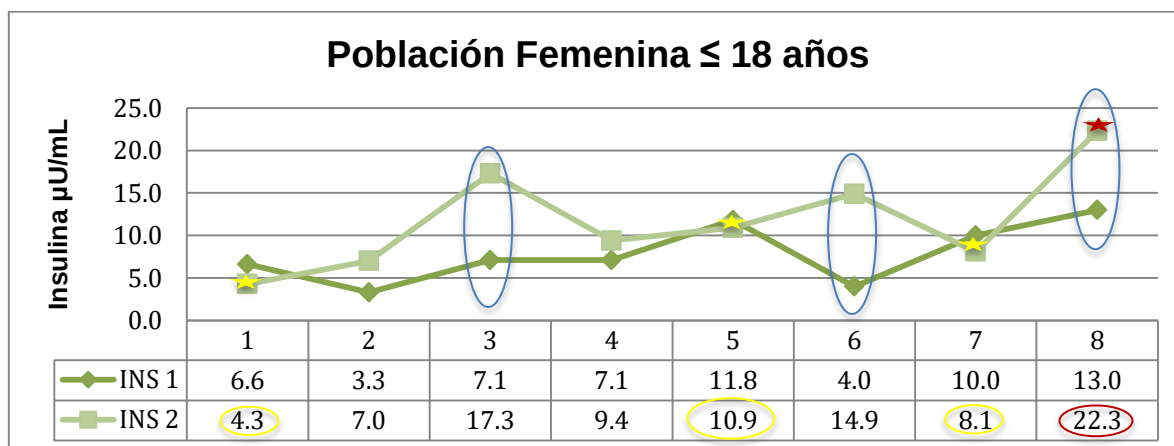


12.8.5 Resistencia a la insulina detectada en población Masculina 30 a 60 años con mediciones de Quantose IR con intervalo $< 6 = a 1$ año.

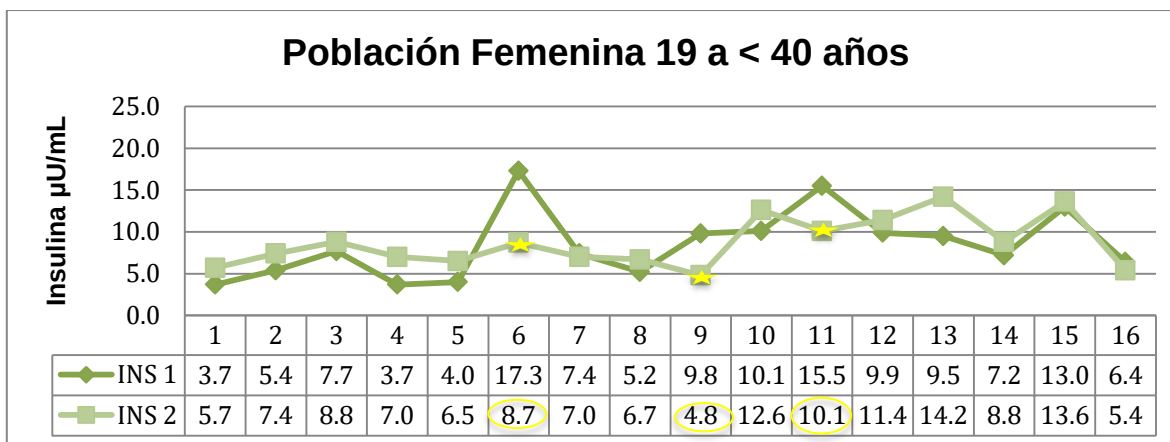


12.8.6 Resistencia a la insulina detectada, comparación del comportamiento de los analitos del algoritmo de Quantose IR

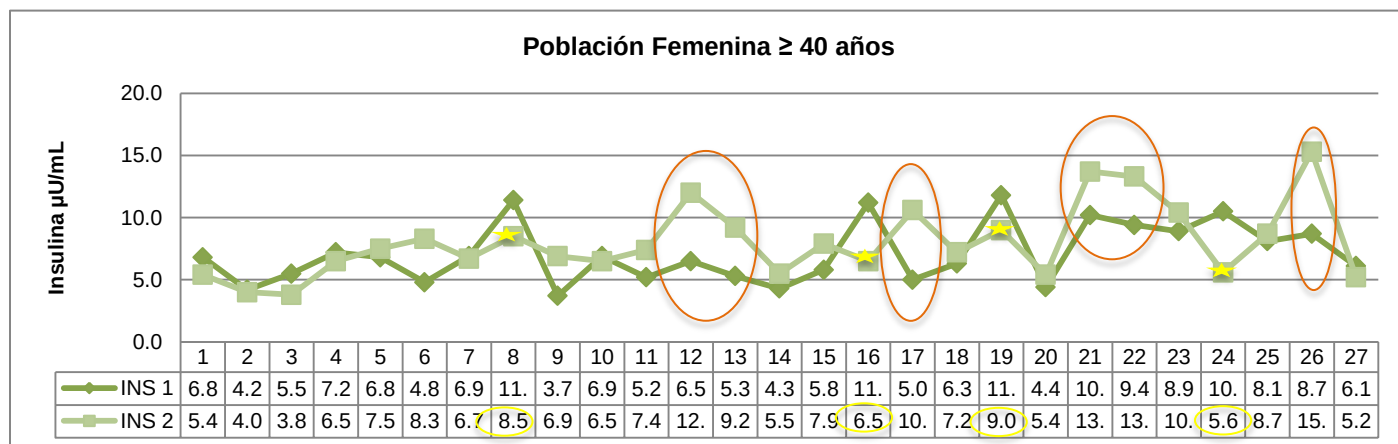
INSULINA



En la población femenina dentro del grupo de edad ≤ 18 años, que incluye adolescentes; en la primera medición todos los valores obtenidos fueron dentro del intervalo de referencia $3.13\mu\text{U/mL} - 21.3\mu\text{U/mL}$. En la segunda medición con reporte de Resistencia a la Insulina, solo una de las pacientes presento valores de Insulina basal por arriba del límite superior del intervalo de referencia $21.3 \mu\text{U/mL}$, 3 de las pacientes presentaron valores ligeramente más bajos de Insulina y solo 3 presentaron un aumento marcado para la segunda medición.

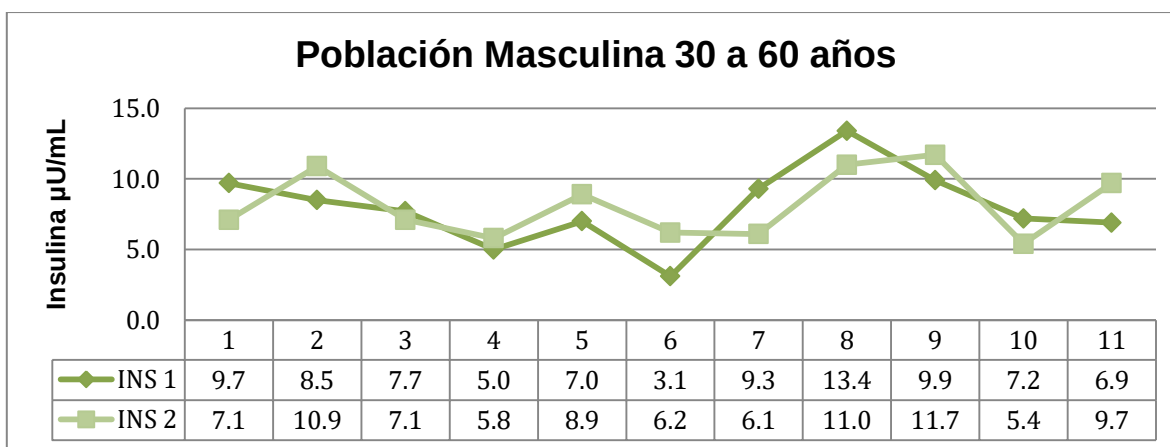


En la población femenina dentro del grupo de edad entre 19 y <40 años, que incluye mujeres adultas y en edad reproductiva; nuevamente en la primera medición todos los valores obtenidos fueron dentro del intervalo de referencia 3.13µU/mL – 21.3µU/mL. En la segunda medición con reporte de Resistencia a la Insulina, ninguna de las pacientes presento valores de Insulina basal por arriba del límite superior del intervalo de referencia 21.3µU/mL. En 3 de las pacientes de este grupo se presentaron valores más bajos de Insulina en su segunda medición. En general se aprecia poca variabilidad entre los valores de insulina de la primera y segunda medición en la mayoría de las pacientes.



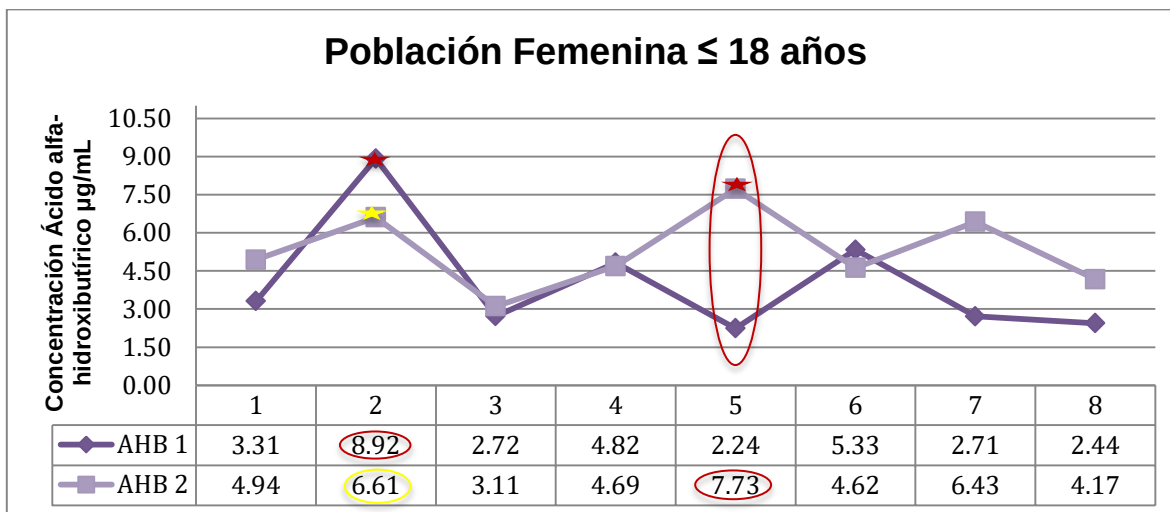
En la población femenina dentro del grupo de edad ≥ 40 años, que incluye mujeres en climaterio, menopausia y adulto mayor; continua la constante de la primera medición en los grupos de edad anteriores donde todos los valores obtenidos fueron dentro del intervalo de referencia 3.13µU/mL – 21.3µU/mL. En la segunda medición con reporte de Resistencia a la Insulina, ninguna de las pacientes presento valores de Insulina basal por arriba del límite superior del intervalo de referencia 21.3µU/mL, 4 de las pacientes de este grupo presentaron incluso valores más bajos de Insulina en su segunda medición. En este grupo en general también se aprecia poca variabilidad

entre los valores de insulina de la primera y segunda medición, sin embargo en 6 casos si es marcado el aumento en los niveles de insulina para la 2° medición.



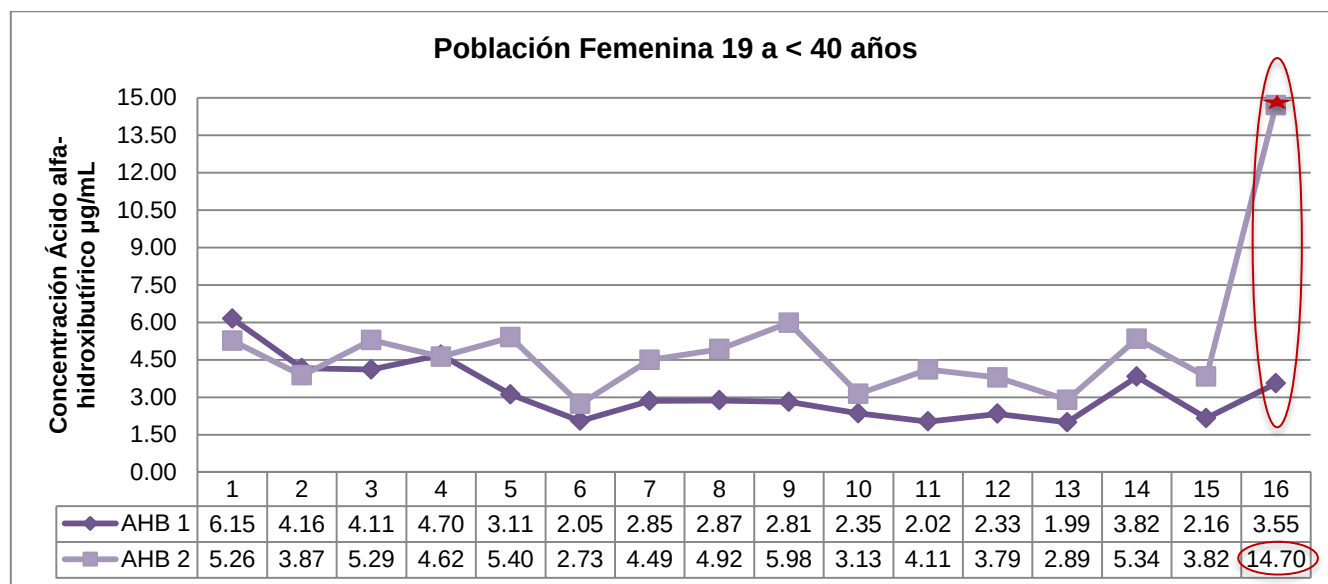
En la población masculina los resultados de los niveles de insulina basal fueron en general homogéneos entre la primera y segunda medición con cifras dentro del intervalo de referencia 3.13µU/mL – 21.3 µU/mL.

ÁCIDO ALFA-HIDROXIBUTÍRICO



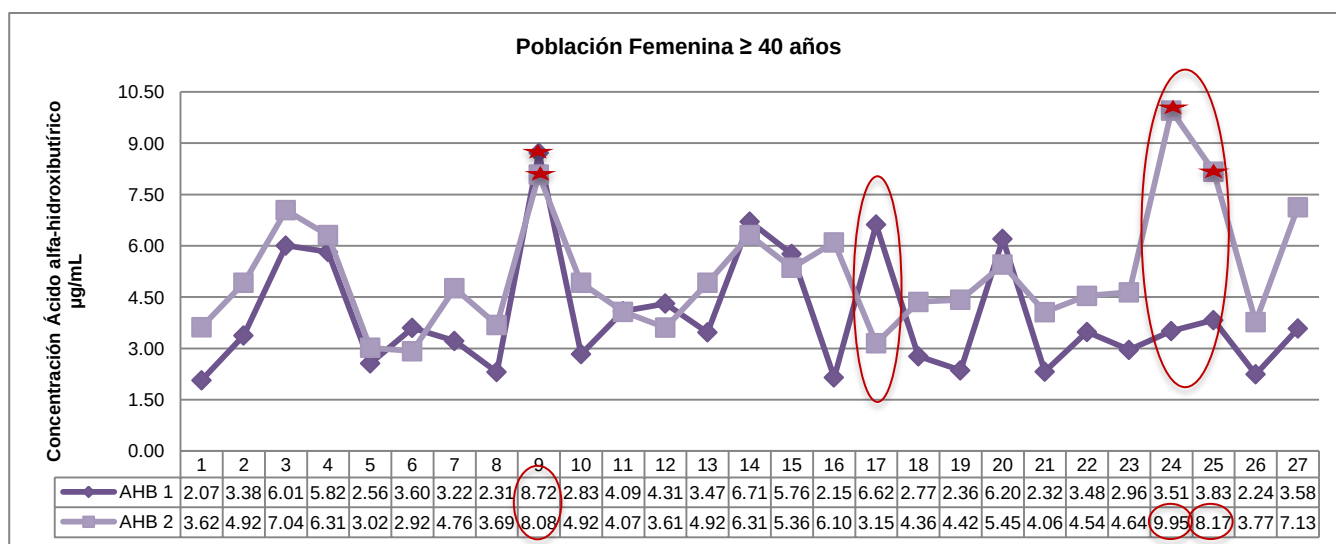
En la primera medición de AHB de la población femenina ≤ 18años, 1 presentó valores por arriba del límite superior del intervalo de referencia 7.37µg/mL, esta misma paciente para la 2° medición, su concentración de AHB se encontró dentro del intervalo de referencia.

Para la segunda medición solo 1 de las pacientes presentó valores por arriba del límite superior del intervalo de referencia 7.37 μ g/mL, siendo esta misma quien presentó el mayor incremento en la concentración de AHB entre una y otra medición, pasando de 2.24 μ g/mL a 7.73 μ g/mL.



En la población femenina de 19 a <40 años, en la primera medición, todas las concentraciones de AHB se presentaron dentro del intervalo de referencia 1.92 μ g/mL – 7.37 μ g/mL.

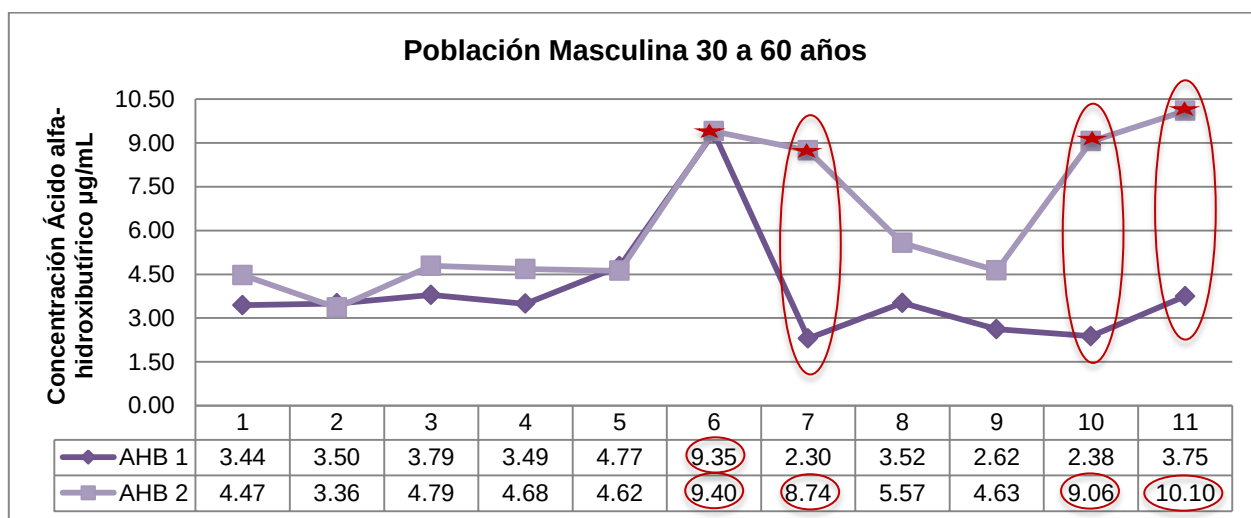
Para la segunda medición esto se mantuvo constante a excepción de 1 de las pacientes, quien presentó valores por arriba del límite superior del intervalo de referencia 7.37 μ g/mL, siendo esta misma quien presentó el mayor incremento en la concentración de AHB entre una y otra medición, pasando de 3.55 μ g/mL a 14.7 μ g/mL.



En la población femenina de ≥ 40 años, en la primera medición, solo 1 paciente presentó concentraciones de AHB por arriba del límite superior del intervalo de referencia $7.37\mu\text{g/mL}$, manteniendo niveles elevados para su 2° medición.

Se presentó 1 caso en el que la concentración de AHB disminuyó de la 1° a la 2° medición, pasando de $6.62\mu\text{g/mL}$ a $3.15\mu\text{g/mL}$, sin embargo ambos valores se encuentran dentro del intervalo de referencia.

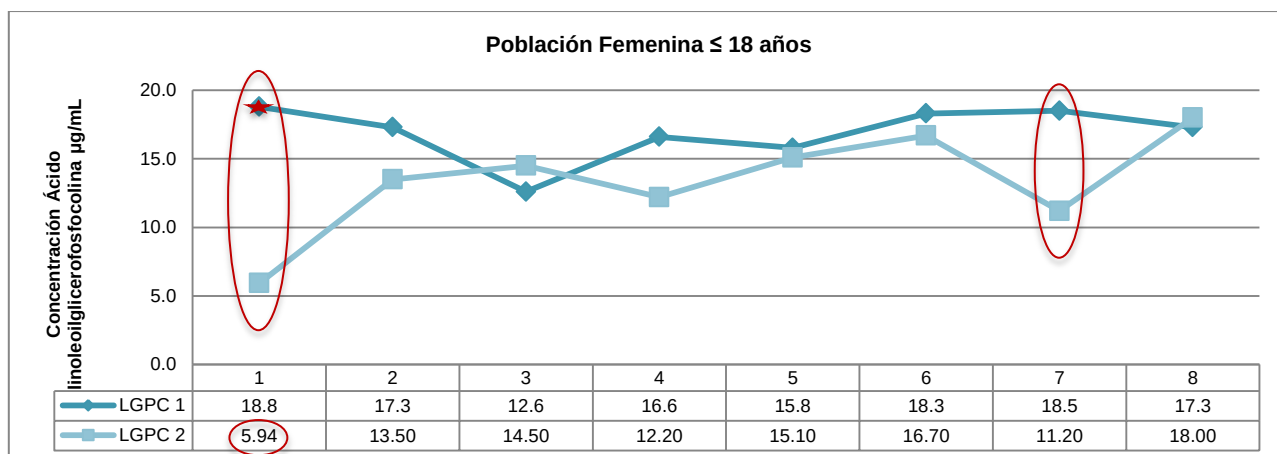
Para la segunda medición 2 de las pacientes presentaron valores de AHB por arriba del límite superior del intervalo de referencia $7.37\mu\text{g/mL}$, siendo estas quienes presentaron el mayor incremento en la concentración de AHB entre una y otra medición, pasando de $3.51\mu\text{g/mL}$ a $9.95\mu\text{g/mL}$ en un caso y de $3.83\mu\text{g/mL}$ a $8.17\mu\text{g/mL}$ en el otro.



En la población masculina, en la primera medición, solo 1 paciente presentó concentraciones de AHB por arriba del límite superior del intervalo de referencia $7.37\mu\text{g/mL}$, manteniendo niveles elevados para su 2° medición.

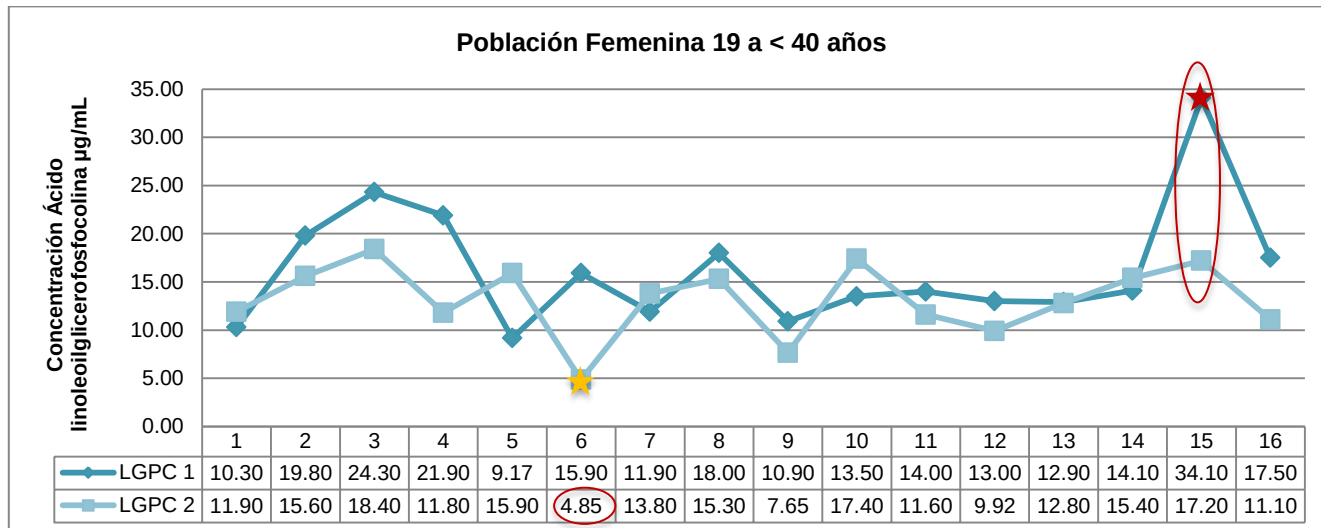
Para la segunda medición 3 de los pacientes presentaron valores de AHB por arriba del límite superior del intervalo de referencia $7.37\mu\text{g/mL}$, siendo estos quienes presentaron el mayor incremento en la concentración de AHB entre una y otra medición, pasando de $2.3\mu\text{g/mL}$ a $8.74\mu\text{g/mL}$ en un caso, de $2.38\mu\text{g/mL}$ a $9.06\mu\text{g/mL}$ en otro y de $3.75\mu\text{g/mL}$ a $10.1\mu\text{g/mL}$ en el último.

ÁCIDO LINOLEOILGLICEROFOSFOCOLINA $\mu\text{g/mL}$



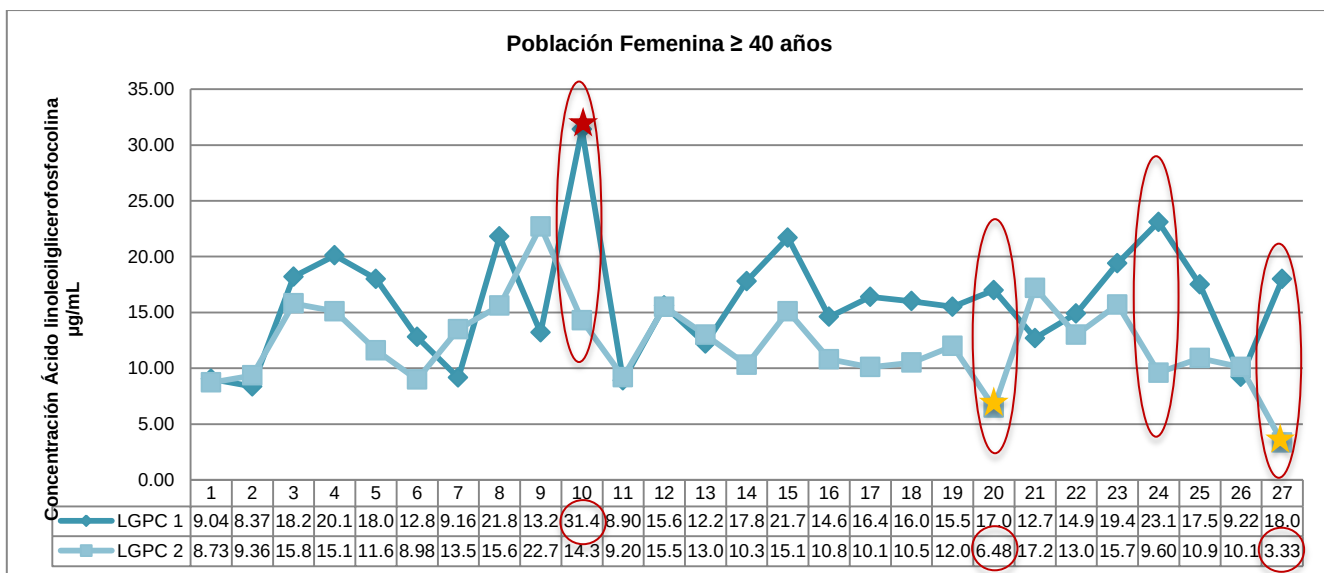
Con respecto a los valores en la primera medición de LGPC en la población femenina ≤ 18 años, estos fueron dentro del intervalo de referencia $7.6 \mu\text{g/mL}$ a $25.4 \mu\text{g/mL}$.

Para la segunda medición solo 1 paciente presentó valores por debajo del límite inferior del intervalo de referencia $7.6 \mu\text{g/mL}$. Para este paciente fue donde se presentó el intervalo más amplio entre la 1° y 2° medición, pasando de $18.8 \mu\text{g/mL}$ a $5.94 \mu\text{g/mL}$.



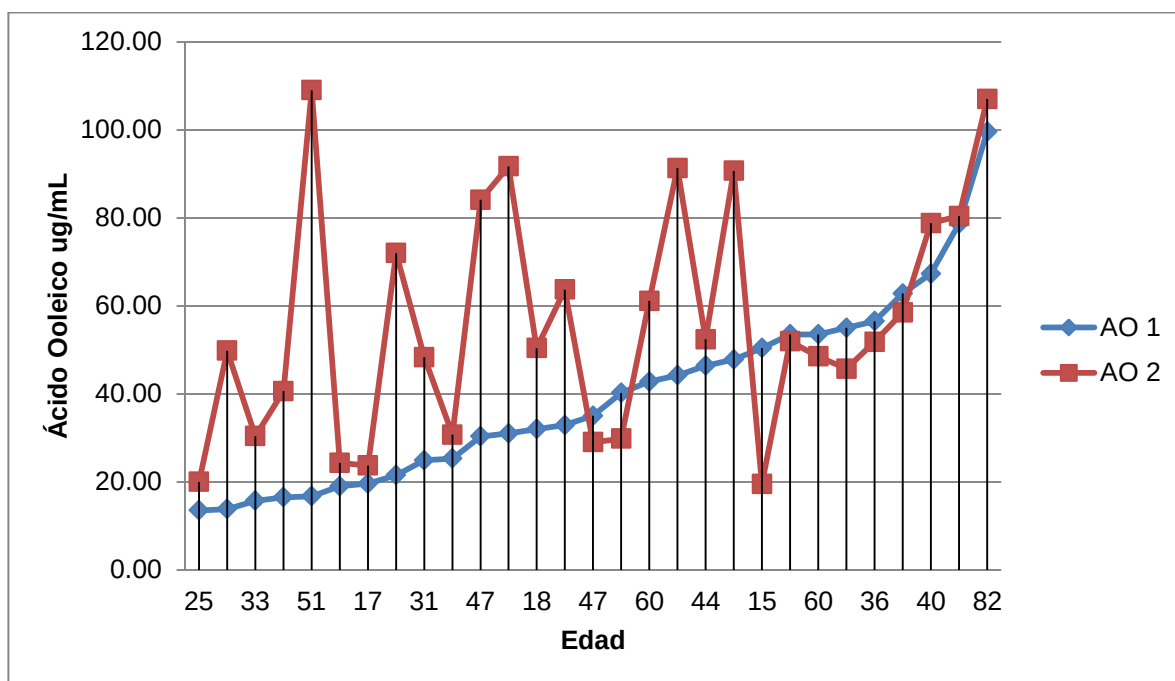
En la población femenina de 19 a < 40 años, en la primera medición de LGPC, 1 de las pacientes presentó valores por arriba del límite superior del intervalo de referencia $25.4 \mu\text{g/mL}$, esta paciente en la 2° medición presentó valores dentro del intervalo de referencia $7.6 \mu\text{g/mL}$ – $25.4 \mu\text{g/mL}$.

Para la segunda medición 1 de las pacientes, presentó valores por debajo del límite inferior del intervalo de referencia $7.6 \mu\text{g/mL}$.



En la población femenina de ≥ 40 años, en la primera medición de LGPC, 1 de las pacientes presentó valores por arriba del límite superior del intervalo de referencia 25.4 $\mu\text{g/mL}$, quien al igual que en el caso anterior presentó valores dentro del intervalo de referencia 7.6 $\mu\text{g/mL}$ – 25.4 $\mu\text{g/mL}$ para la 2ª medición.

Para la segunda medición 2 de las pacientes presentaron valores de LGPC por debajo del límite inferior del intervalo de referencia 7.6 $\mu\text{g/mL}$.

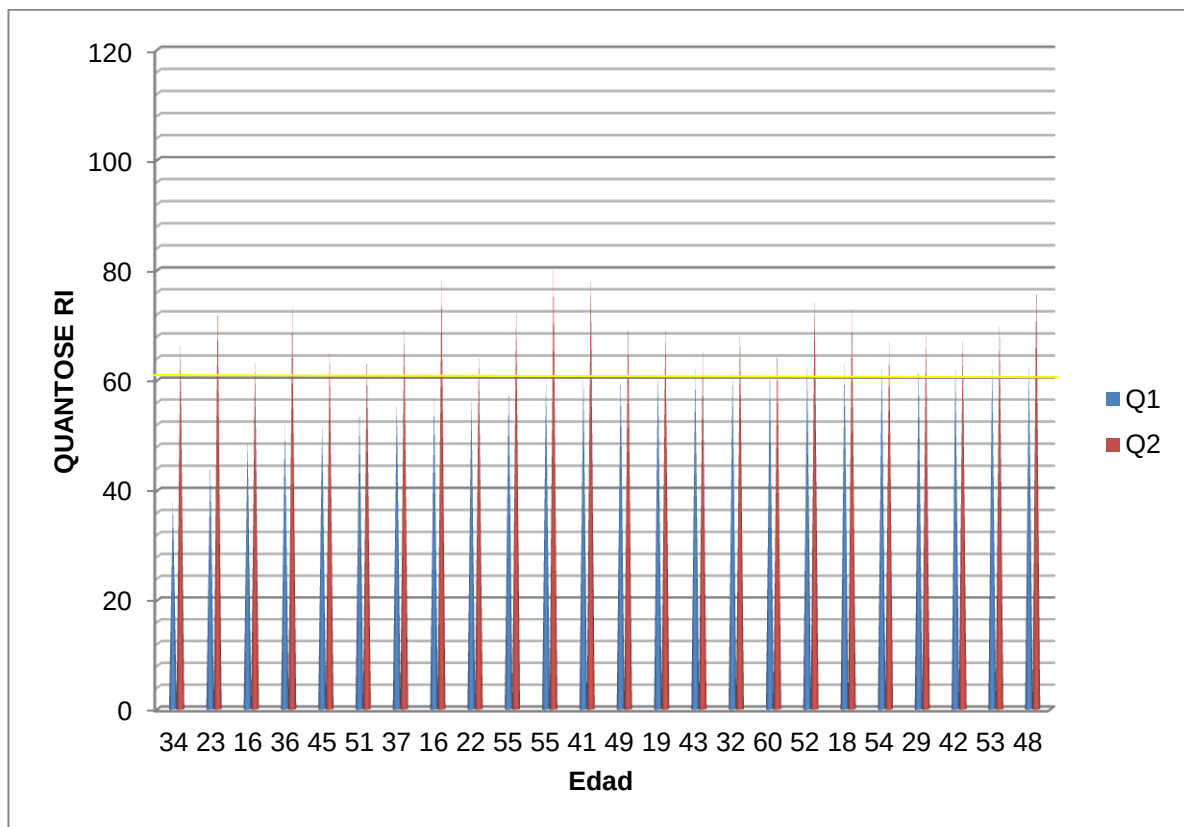


Para los valores de AO en la primera medición 15 pacientes presentaron valores óptimos menores a 38ug/mL, 11 pacientes con valores en rango intermedio 38-65ug/mL, y 3 pacientes con valores elevados mayores a 65mg/mL.

De los 15 pacientes con valores óptimos solo 6 pacientes se mantuvieron dentro de éste rango para la segunda medición. De los 11 pacientes con rango intermedio en la primera medición, 2 tuvieron disminución a rango óptimo en la segunda medición, 7 se mantuvieron dentro de éste rango intermedio, y el resto pasó a un rango alto.

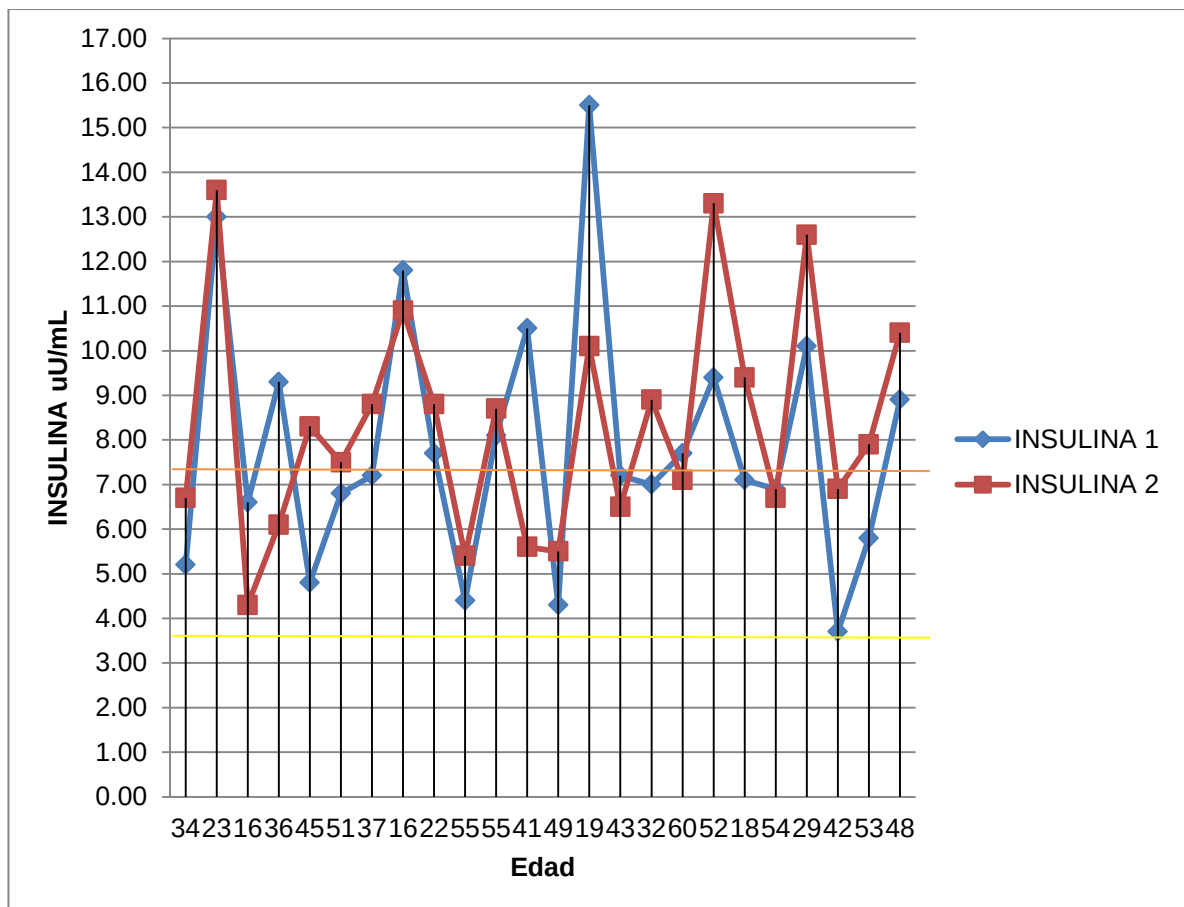
- Contiene la descripción de los hallazgos de la investigación. Deben ser relatados de manera clara y completa. En la medida de lo posible, los resultados se presentan en gráficas, cuadros, tablas, diagramas, etc. Todos estos deben estar numerados y se deben mencionar en el texto. En caso de haberse realizado pruebas estadísticas, la significancia se debe mostrar en los pies de figuras, tablas y cuadros.

Resistencia a la insulina detectada en pacientes con estudio de Quantose IR con intervalo < ó = a 6 meses.



24 pacientes que presentaron un primer score menor o igual a un puntaje de 63 considerado como sensible a la Insulina, con un posterior score mayor a 63 dentro de un intervalo de tiempo menor o igual a 6 meses.

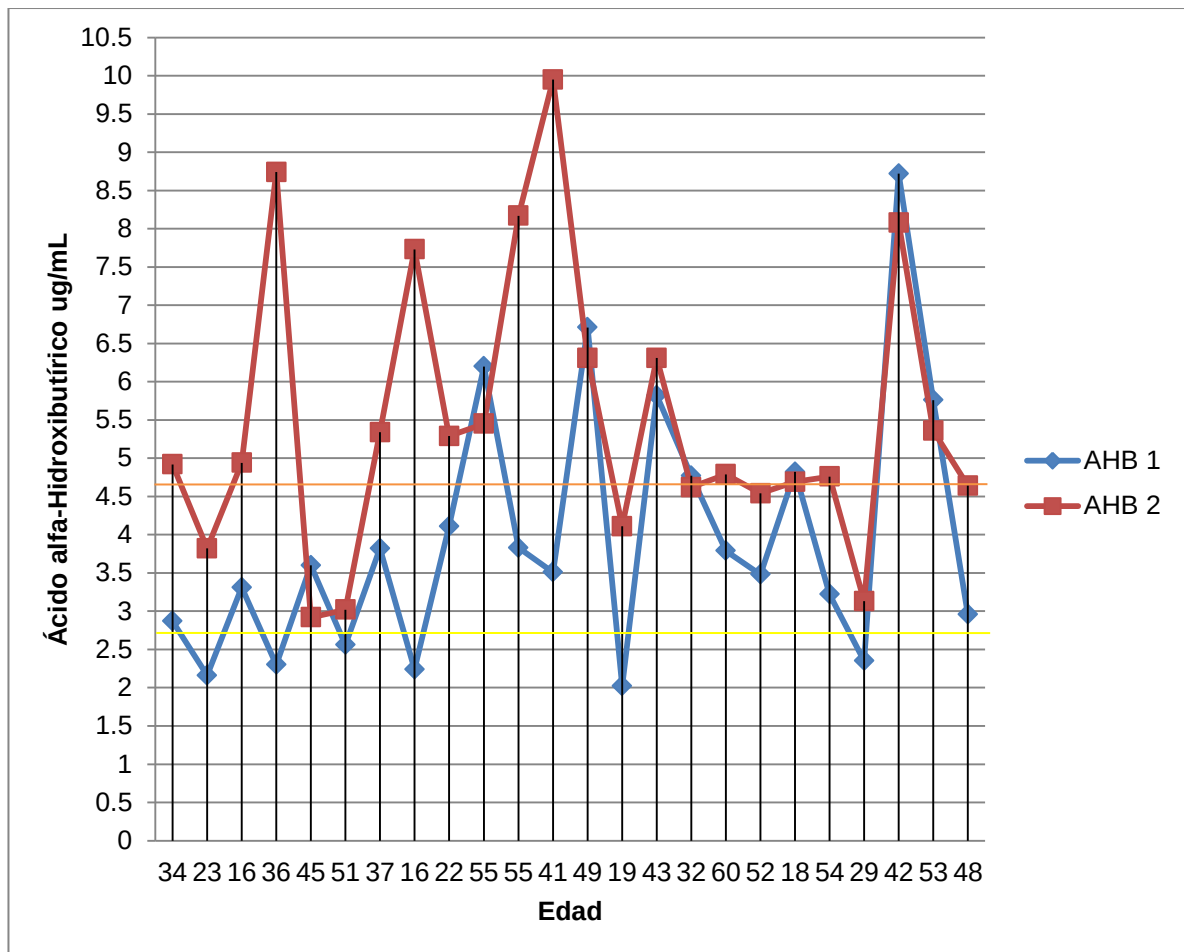
Resistencia a la insulina detectada, comparación del comportamiento de los analitos del algoritmo de Quantose IR.



De los 24 paciente para ambas mediciones ninguno presentó valores en la concentración de Insulina óptimos, menores a 3.7 uU/mL.

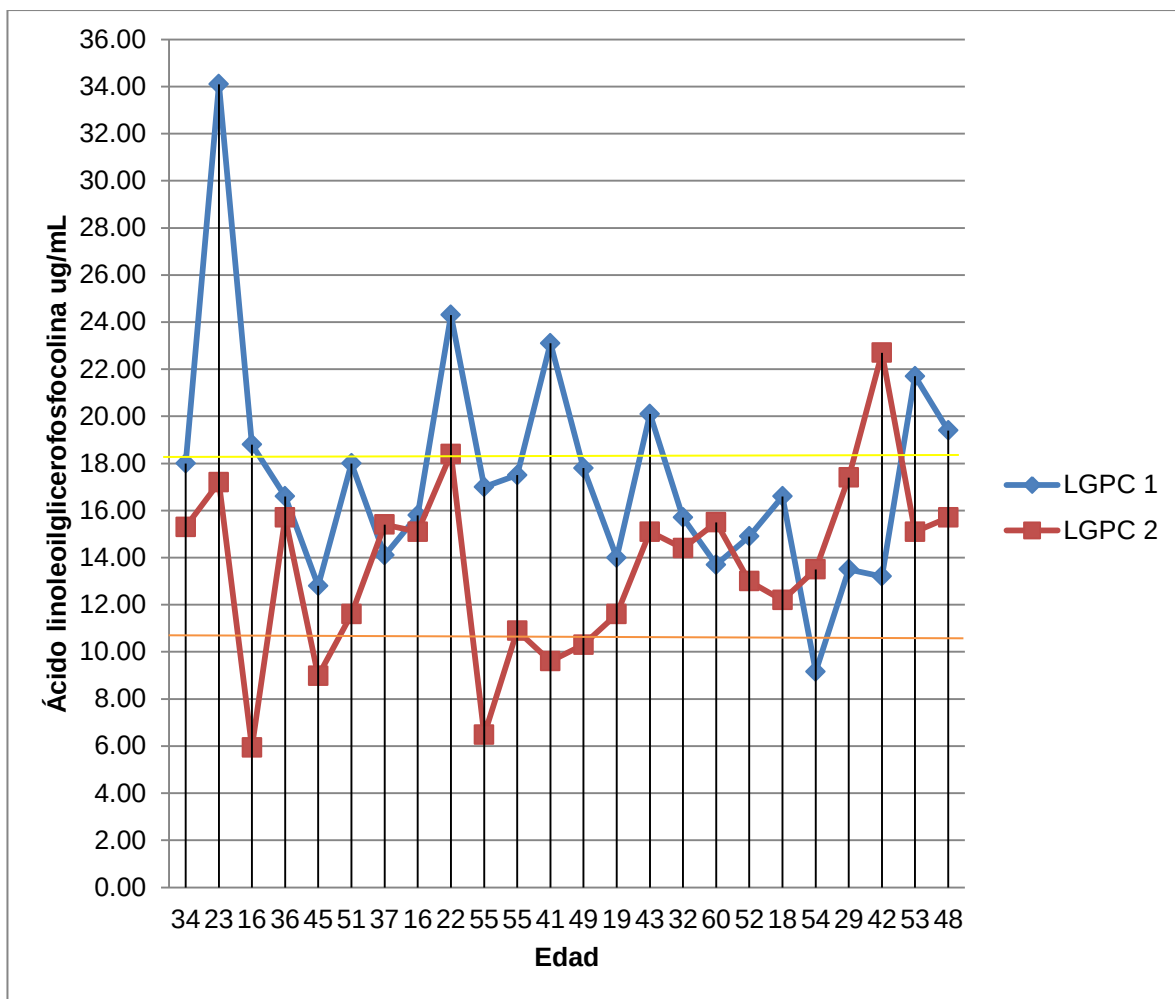
13 pacientes presentaron valores de insulina entre 3.7-7.3uU/mL, considerados como de rango intermedio. Representando el 54% del total de pacientes. De estos pacientes, para la segunda medición sólo 7 pacientes se mantuvieron dentro del rango intermedio, los 6 restantes presentaron valores mayores a 7.3uU/mL.

11 pacientes presentaron valores de insulina elevados en su primera medición, mayores a 7.3uU/mL, de los cuales solo 3 presentaron mediciones en rango intermedio para la segunda medición.



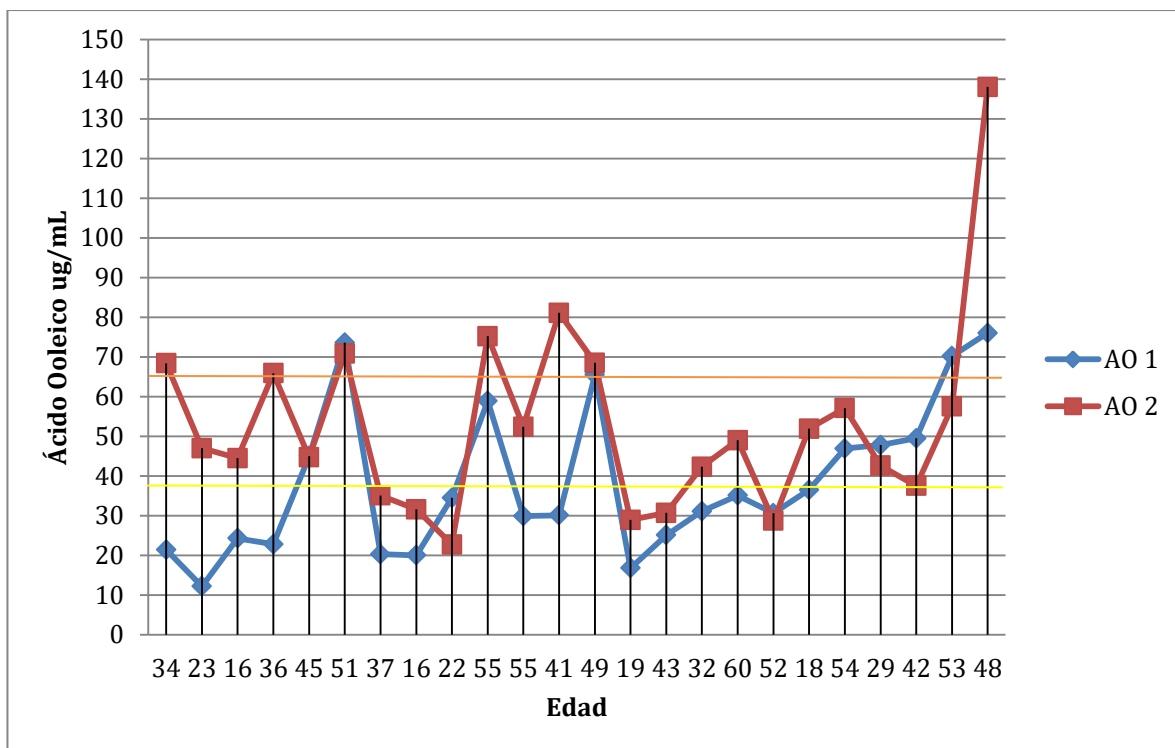
Para las mediciones de AHB sólo 8 pacientes presentaron valores menores a 3.1 ug/mL, considerados como óptimos, en su primera medición. 10 pacientes con valores intermedios, de 3.1-4.8ug/mL y 6 pacientes con valores elevados mayores a 4.8uug/mL.

Para la segunda medición ninguno de los pacientes presentó algún valor considerado como óptimo. De los 10 pacientes con valores intermedios de AHB en la medición inicial, solo 5 se conservaron dentro de este rango. El resto presentó valores elevados.



Con respecto a los valores en la primera medición de LGPC, 6 pacientes se presentaron dentro de un rango óptimo mayor a 18.9ug/mL. 17 pacientes con valores dentro del rangp intermedio 11.9-18.9um/mL y 1 paciente con valor elevado menor 11.9mu/mL.

Para la segunda medición, solo 1 paciente presentó una medición en rango óptimo, 15 en rango intermedio y 8 con rango elevado.



Para los valores de AO en la primera medición 15 pacientes presentaron valores óptimos menores a 38ug/mL. 5 pacientes con valores en rango intermedio 38-65ug/mL, y 4 pacientes con valores elevados mayores a 65mg/mL.

De los 15 pacientes con valores óptimos solo 6 pacientes se mantuvieron dentro de éste rango para la segunda medición. El resto pasó a un rango intermedio o alto.

14. Discusión de resultados

Contiene un análisis relatado y descriptivo de los resultados. En esta sección se contrasta y comparan los resultados obtenidos con lo que se ha reportado previamente en la literatura.

15. Conclusiones

Menciona las inferencias realizadas a partir de los resultados obtenidos, las implicaciones teóricas y como se pueden llevar a la práctica.

16. Perspectivas

12.8.7 Lineamientos éticos.

Este proyecto se realizó bajo el cumplimiento de las exigencias normativas y éticas que establecen para la investigación clínica la Ley General de Salud en materia de investigación en humanos.

Se respetó la confidencialidad de los pacientes y de los datos obtenidos de los reportes de laboratorio electrónicos.

Es un estudio sin riesgo para el paciente, por lo que no se requirió de consentimiento informado. El proyecto se realizó respetando las recomendaciones de la declaración de Helsinki, revisada por la Asociación Médica Mundial en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013 (47).

12.8.8 Referencias bibliográficas

1. Hiriart, Marcia & Sanchez-Soto, Carmen & Díaz García, Carlos & Castanares, Diana & Avitia, Morena & Velasco, Myrian & Mas-Oliva, Jaime & Macias-Silva, Marina & González-Villalpando, Clicerio & Coello, B. & Sosa-Garrocho, Marcela & Vidaltamayo, Roman & Fuentes-Silva, Deyanira. (2014). Hyperinsulinemia is Associated with Increased Soluble Insulin Receptors Release from Hepatocytes. *Frontiers in endocrinology*. 5. 10.3389/fendo.2014.00095.
2. RESISTENCIA A LA INSULINA: VERDADES Y CONTROVERSIAS INSULIN RESISTANCE: TRUTHS AND CONTROVERSIES DR. FELIPE POLLAK C. (1) (1) Profesor Asistente. Depto. de Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. [REV. MED. CLIN. CONDES - 2016; 27(2) 171-178.
3. San Mauro-Martin I, López-Oliva S, Garicano-Vilar E, García-de Angulo B, Blumenfeld-Olivares JA. Detección de la alteración del metabolismo glucídico y resistencia a la insulina en una muestra piloto infantil: Aproximación metabólica. *Univ. Salud*. 2019;21(3):191-197. DOI: <http://dx.doi.org/10.22267/rus.192103.155> Centros de Investigación en Nutrición y Salud. Madrid, España 2 Servicio de Endocrinología Pediátrica, Hospital El Escorial. Madrid, España.
4. Prediabetic patients evaluated with Quantose™ IR and their relationship with anthropometric measurements through bioelectrical impedance analysis Vanessa Mota-Sanhuaa,b1*, José Alberto Rojas-Jiménez2, Diana Martínez-Castañeda3, Alejandro Covarrubias-Cortés4, Georgina Flores-García5, Sandra López- Ríosa6, Adriana Reyes-Camachoa7, José Antonio Jácome-Mondragón8, Blanca Velázquez-Hernández9 a Centro Médico ABC, Clínicas de Salud Incluyente y Educación, Ciudad de México, México. b Universidad Anáhuac México, Campus Norte, Centro de Investigación en Ciencias de la Salud, Huixquilucan, Estado de México, México. *Proceedings of Scientific Research Universidad Anáhuac*, 2022, 2(3): 5-10. ISSN: in process.
5. Gall WE, Beebe K, Lawton KA, Adam K-P, Mitchell MW, et al. (2010) α-Hydroxybutyrate Is an Early Biomarker of Insulin Resistance and Glucose Intolerance in a Nondiabetic Population. *PLoS ONE* 5(5): e10883. doi:10.1371/journal.pone.0010883.
6. Ferrani E. et al (2013) Early Metabolic Markers of the Development of Dysglycemia and Type 2 Diabetes and Their Physiological Significance. *Diabetes*; 62(5): 1730-1737.
7. Goldner M, Spergel G (1972). On the transmission of alloxan diabetes and other diabetogenic influences. *Advances in metabolic disorders*; Vol 6, 57-72.
8. Guash-Ferre M, et al (2016). Metabolomic in prediabetes and diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes care*; 39(5):833-846.

9. Michael V. Milburn and Kay A. Lawton. (2013). Application of Metabolomics to Diagnosis of Insulin Resistance. *Annu. Rev. Med.*, 64, 291-305.
10. Muniyappa R, Madan R. Assessing Insulin Sensitivity and Resistance in Humans. *Endotext*. MDText.com, Inc.; 2000.
11. Taleuzzaman M, Ali. Ultra performance liquid chromatography (UPLC): A review. *Austin J Anal Pharm Chem*. 2015;2(6):1-5.
12. Sheliya K., Shah K V. Ultra performance liquid chromatography (UPLC): A modern chromatography technique. *Pharma Sci Monit*. 2013; 4(3):78-99.
13. Blum F. High performance liquid chromatography. *Br J Hosp Med*. 2014; 75(SUPPL.2).
14. Cobb J, Gall W, Adam KP, Nakhle P, Button E, Hathorn J, et al. A novel fasting blood test for insulin resistance and prediabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2013; 7 (1): 100-10.
15. Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, Atabek ME, Yazici C. Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics*. 2005 Apr; 115 (4).
16. Artunc F, Schleicher E, Weigert C, Fritsche A, Stefan N, Häring HU. The impact of insulin resistance on the kidney and vasculature. Vol. 12, *Nature Reviews Nephrology*. Nature Publishing Group; 2016. p. 721-37.
17. Alberto J, Reyes O, Plancarte AA. BASE MOLECULARES DE LAS ACCIONES DE LA INSULINA.
18. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, adoptada por la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. World Medical Association, editor. Francia: Asociación Médica Mundial - WMA; 2015 Revisión 5-May.
19. Yanes O (2014). Metabolómica: la ciencia ómica más multidisciplinaria. 09 de diciembre del 2019, de SEBBM. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. Sitio web: Universidad de los Andes Vigilada Mineducación. <https://metcore.uniandes.edu.co/es/acerca-de-metabolomica.pdf>
20. Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Mar 22;13(4):263-9. doi: 10.1038/nrm3314. PMID: 22436749; PMCID: PMC3682684.
21. Govers E, Slof E, Verkoelen H, Ten Hoor-Aukema NM, KDOO (2015) Guideline for the Management of Insulin Resistance. *Int J Endocrinol Metab Disord* 1(4): doi <http://dx.doi.org/10.16966/2380-548X.115>