

UNIVERSIDAD POPULAR AUTONOMA DEL
ESTADO DE PUEBLA



Centro Interdisciplinario de Posgrados

Clínica Ruiz Laboratorios



**DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA A LA INSULINA POR
METABOLÓMICA EN PACIENTES CON ESCLEROSIS
MÚLTIPLE.**

Tesis para obtener el grado de
Especialidad en:

CIENCIAS DEL LABORATORIO CLÍNICO

Presenta:

Q.F.B Mariana Alicia Méndez Huerta

Director:

Dr. Alejandro Ruiz Argüelles

H. Puebla de Zaragoza, Puebla.

Febrero 2019.



UPAEP – Secretaría General

Dirección General de Apoyos Académicos

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

Biblioteca Central - **Karol Wojtyła**

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.

DEDICATORIAS

A Dios, por llenar mi vida de bendiciones, porque has destinado para mí sólo lo mejor, incluyendo personas y experiencias, no existe un solo día en que no sienta tu presencia, amor infinito y compañía, jamás me cansaré de agradecerte por todo lo bueno y malo que ha pasado en mi vida, ya que gracias a ello soy quien soy.

A mis grandes amores, mis padres Yanina y Pedro, que siempre han sido el pilar y motor de mi vida, que con su ejemplo de entrega y dedicación me han enseñado que no existen límites para lograr lo que uno desea, que basta con amar lo que se hace para disfrutar cada día, que es probable que el camino sea cansado e implicará sacrificios, pero siempre la satisfacción de llegar a la meta será la mayor recompensa y te impulsará a cumplir nuevos objetivos. Mamá gracias por nunca soltar mi mano, por tu amor, por ser mi ejemplo de mujer, por la seguridad y la fuerza que me da tu compañía y la tranquilidad que siento al saber que siempre estarás ahí, nunca me cansaré de agradecerle a Dios por tu existencia en mi vida. Papá gracias por tu amor incondicional, por tu apoyo en todo momento, por sentirte orgulloso de mis triunfos, por hacerme sentir que mientras esté me encuentras segura y que lo único que debe preocuparme es ser feliz.

A mis hermanas y sobrinos que en todo momento han estado para apoyarme y hacerme inmensamente feliz, porque su espera a mi llegada, su felicidad por mis logros y su amor, siempre han sido una motivación para dar lo mejor de mí.

A mis abuelos que con su ternura y amor han sido siempre mi refugio y mi paz, tenerlos a mi lado ha sido una de las bendiciones más grandes que Dios me ha dado, pues lo que soy ahora tiene fundamento en ustedes.

A mis tíos y primos que han estado cuando los he necesitado, que día a día reafirman que somos una gran familia que comparte alegrías y también tristezas, pero sobre todo que siempre se encuentra unida.

A Mario, el amor de mi vida, quien está conmigo en todo momento, apoyándome y también enseñándome, esa persona que me acepta como soy y que no pretende cambiarme pero que saca lo mejor de mí; gracias por ser tan incondicional, por tus palabras de aliento, por estar a mi lado a lo largo de este camino a pesar de la distancia, por siempre mostrarte optimista, por confiar en mí y en lo que soy, por recordarme cada día que el límite para alcanzar mis sueños es el cielo y que siempre estarás ahí para ver como los logro y para ser mi apoyo si lo necesito, gracias por ser parte de mi felicidad, te amo infinitamente.

Con amor.
Mariana.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Ruíz Argüelles, quien siempre ha sido parte importante en mi vida, que junto con Dios hace 22 años hicieron posible que yo me encuentre el día de hoy aquí y les estaré eternamente agradecida por ello; ahora no sólo es mi Médico sino también mi Maestro, gracias por las enseñanzas de vida y profesionales que compartió conmigo a lo largo de estos tres años, por el apoyo incondicional que siempre me brindó, por la confianza que depositaba en mi día con día, sus consejos, conocimiento y ejemplo fueron cimientos firmes que me impulsaron para seguir adelante y poder cumplir con este objetivo. Que Dios lo bendiga siempre.

Al Dr. Alejandro Ruiz Argüelles, por ser el creador de este gran trabajo del que me siento inmensamente orgullosa y por confiar en mi para la realización del mismo, por compartir su conocimiento y contagiarme esas ganas por la investigación que tanto lo caracterizan, gracias por el tiempo, dedicación y apoyo, me siento honrada de haber trabajado bajo su orientación.

A los Doctores Rafael Antonio Marín y López y Francisco Javier Sánchez Anzaldo por haber sido partícipes de esta experiencia, compartiendo su experiencia y conocimiento.

A cada uno de los Químicos y Médicos que formaron parte de las sesiones académicas, estoy segura que sus enseñanzas nos serán útiles en nuestro desempeño profesional.

Al personal de Laboratorios Ruiz, porque su compañía, apoyo, consejos y sabiduría fueron fundamentales para la culminación de esta meta, además de que compartimos momentos que atesoraré en mi memoria.

A Cristina, Adán y José María, porque además de aprender lo que la institución nos proporcionó, aprendimos unos de otros, formamos un equipo y logramos trabajar por un bien común, gracias por el tiempo compartido, el apoyo, los momentos buenos y también los momentos en los que no estábamos de acuerdo, porque gracias a ellos aprendimos a escuchar y a aceptar que alguien más puede tener la razón y que acoplarse a los demás también es algo benéfico para todos.

A los residentes que estuvieron presentes en el transcurso de estos tres años porque el conocerlos también ha sido un aprendizaje.

A Fernanda, Edwin y Víctor porque con su presencia lograron que los días pesados fueran más ligeros, que los días alegres fueran más divertidos, siempre leales, siempre apoyándome, siempre enseñándome, son un gran ejemplo y es un gusto poder decir que son mis colegas pero sobre todo, son tres de mis mejores amigos.

INDICE

RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES	7
3. MARCO TEORICO	8
3.1 Esclerosis múltiple	8
3.2 Síndrome metabólico y resistencia a la insulina.....	17
3.2.1 ÍNDICE HOMA	20
3.2.2 QUANTOSE RI.	20
3.2.2.1 Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (UPLC/MS/MS)	22
3.2.2.2 Inmunoensayo Quimioluminiscente de micropartículas	24
4. FORMULACION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION.....	27
5. OBJETIVOS E HIPOTESIS	28
5.1 OBJETIVOS	28
5.2 HIPÓTESIS.....	28
6. MATERIAL Y MÉTODOS	29
6.1 MATERIAL	29
6.2 ESTIMACIÓN DE RESISTENCIA A LA INSULINA.....	29
6.2.1 Metodología para la determinación de Insulina en Laboratorios Ruiz	29
6.2.2 Metodología para la determinación de Quantose score	30
6.3 TIPO DE INVESTIGACION	34
6.4 POBLACION	34
6.5 MUESTRA	34
6.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN	34
6.6.1 Criterios de inclusión	34
6.6.2 Criterios de exclusión.....	34
7. ANALISIS ESTADISTICO	35
8. RESULTADOS.....	36
8.1 Resistencia a la insulina y su relación con el tipo de esclerosis múltiple.	38
8.2 Resistencia a la insulina y grado de discapacidad de esclerosis múltiple.	40
8.3 Asociación entre resistencia a la insulina y otros parámetros	41
8.4 Correlación de Quantose score e índice HOMA.	41
9. DISCUSIÓN	43
10. CONCLUSIONES	45
11. BIBLIOGRAFÍA	46

RESUMEN

Contexto: El proceso inflamatorio crónico y el estrés oxidativo de pacientes con esclerosis múltiple (EM) así como la discapacidad de la enfermedad medida por la escala de estado de discapacidad expandida (EDSS) parecen estar asociados a resistencia a la insulina (RI), además el síndrome metabólico relacionado a resistencia a insulina se ha encontrado con mayor prevalencia en pacientes con esclerosis múltiple, proponiéndose que debe ser considerado como parte de la atención estándar para este tipo de pacientes.

Objetivos: Determinar la prevalencia de la resistencia a insulina en pacientes con esclerosis múltiple utilizando la puntuación del método metabólico Quantose. Analizar la asociación de resistencia a la insulina con el grado de discapacidad en pacientes con esclerosis múltiple así como su relación con otros parámetros clínicos.

Material: En el estudio fue incluida una población total de 64 pacientes con esclerosis múltiple a los cuales se les extrajo una muestra sanguínea para estimar el puntaje de Quantose que se obtiene a partir de la medición en ayunas de ácido a-hidroxi-butírico (a-HB), ácido oleico, Linoleil-glicerofosfolina (L-GPC) e insulina.

Método: Los niveles de insulina se determinaron utilizando un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas automatizado; los metabolitos determinaron mediante cromatografía de líquidos de ultra resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC/MS/MS). Los resultados obtenidos se ingresaron al sistema electrónico para la estimación del puntaje de Quantose.

Resultados: Se diagnosticó resistencia a la insulina en 33 pacientes del total analizado (52%), además se encontró una relación estadísticamente significativa entre la resistencia a la insulina y el grado de discapacidad de la enfermedad, así como con el tiempo de evolución de la enfermedad. Se observó también que los pacientes con la forma progresiva de esclerosis múltiple son los que presentan una mayor prevalencia.

Conclusión: Los resultados obtenidos demuestran que es necesario establecer el análisis para el diagnóstico de resistencia a la insulina en pacientes con esclerosis múltiple como parte del protocolo estándar para su atención; además comprueban que el mejor método no invasivo para diagnóstico de resistencia a la insulina es el puntaje obtenido por metabólica (Quantose). Complicaciones como la retinopatía, la neuropatía y la nefropatía propias de la hiperglucemia pueden aparecer de manera temprana y contribuir en el deterioro del bienestar de los pacientes con esclerosis múltiple, sin embargo la prevención oportuna ofrecerá una mejor calidad de vida y una reducción considerable en el costo del tratamiento.

1. INTRODUCCIÓN

La resistencia a la insulina (RI) parece estar asociada con el proceso inflamatorio crónico, el estrés oxidativo en pacientes con esclerosis múltiple (EM) así como con la discapacidad originada por la misma y que es medida por la escala de estado de discapacidad expandida (EDSS).¹³ La hiperinsulinemia por el contrario no se ha relacionado con el estrés oxidativo o con la discapacidad de la enfermedad por lo tanto, es posible que los factores involucrados en la compleja red metabólica de la resistencia a la insulina, además de la hipersecreción de insulina, participen en el deterioro de la función del sistema nervioso central.¹⁴

El estudio de síndrome metabólico relacionado a resistencia a la insulina, ha demostrado que los pacientes con esclerosis múltiple tienen una mayor prevalencia del mismo y se ha propuesto que sea considerado junto a otras comorbilidades como parte de la atención estándar de pacientes con esclerosis múltiple.¹⁹

Una de las principales limitantes de estudios previos en pacientes con esclerosis múltiple es que la resistencia a la insulina fue determinada a través de la fórmula del modelo homeostático "HOMA" (por sus siglas en inglés "*homeostasis model assessment*") que depende de los niveles en ayunas de glucosa e insulina presentes en el plasma. Para que el índice HOMA permita detectar resistencia a la insulina los niveles de glucosa e insulina o ambos, deben estar anormalmente altos, lo que indica una etapa avanzada en la progresión hacia la intolerancia a la glucosa y la diabetes. Se estima que las personas en el tercil superior de intolerancia a la glucosa han perdido la función de las células beta del páncreas en un 70-80% y pueden progresar a diabetes mellitus tipo 2 con una tasa superior al 15% por año.^{10,20}

En el análisis de muestras de plasma de individuos sanos en ayunas, se han identificado cuatro biomarcadores que se correlacionan con la tasa de eliminación de glucosa mediada por insulina en el cuerpo. Individualmente el ácido α -hidroxibutírico (α -HB), el ácido oleico y la insulina se correlacionan inversamente con el metabolismo de la glucosa estimulado por la insulina, mientras que Linoleil-glicerofosfocolina (L-GPC) lo hace positivamente. Estos analitos se utilizan para estimar un puntaje (Quantose) que predice la progresión a tres años de una tolerancia a la glucosa normal hacia intolerancia a la glucosa y diabetes.⁴ Hasta el momento el valor obtenido en Quantose es la mejor prueba no invasiva para estimar resistencia a la insulina en una etapa temprana.

2. ANTECEDENTES

En relación a la Resistencia a la insulina y la Esclerosis múltiple las siguientes publicaciones han tenido un aporte significativo:

- 1) Discapacidad en pacientes con esclerosis múltiple: influencia de la resistencia a la insulina, la adiposidad y el estrés oxidativo.¹³
- 2) Hiperinsulinemia en pacientes recién diagnosticados con esclerosis múltiple.¹⁴
- 3) Comorbilidades y síndrome metabólico en pacientes con esclerosis múltiple de Asturias y Cataluña, España.¹⁹
- 4) El polimorfismo del factor de necrosis tumoral beta se asocia con marcadores inflamatorios y metabólicos en pacientes con esclerosis múltiple.⁹
- 5) Obesidad y esclerosis múltiple: un estudio de aleatorización mendeliana.¹¹

3. MARCO TEORICO

3.1 Esclerosis múltiple

Los padecimientos desmielinizantes están caracterizados por inflamación y destrucción de la mielina en el sistema nervioso central (SNC), sin embargo, el sistema nervioso periférico no presenta alteraciones.

La esclerosis múltiple (MS por sus siglas en ingles) es una enfermedad crónica que de manera general para su diagnóstico presenta como principal característica el cumplimiento estricto de la triada clínica: inflamación, desmielinización y gliosis (tejido cicatricial) y por último pérdida neuronal. El padecimiento puede presentar etapas de recaída-remisión o ser progresivo. Las lesiones pueden ocurrir en diferentes zonas del SNC así como en diversos instantes y su evolución es variada ya que puede ir desde una alteración benigna hasta una alteración incapacitante. Se estima que afecta a cerca de 2.5 millones de personas en el mundo.

Patología

La inflamación es mediada por mononucleares como células t y macrófagos, afectándose la barrera hematoencefálica en los sitios de inflamación pero quedando intacta la pared vascular, se observa además infiltración por linfocitos B presencia de auto-anticuerpos en las vainas de mielina en degeneración y activación del complemento. Como se ha mencionado la desmielinización es la principal característica del padecimiento y al inicio de la lesión quística existen indicios de dicha afectación. En las placas de lesión que se observan en MS las células precursoras de oligodendrocito sobreviven pero son incapaces de madurar a células productoras de mielina; cuando los oligodendrocitos supervivientes o aquellos que se diferencia de células precursoras producen desmielinización parcial de los axones residuales se forman las “placas de sombra”. Conforme las lesiones evolucionan los astrocitos proliferan dando lugar a gliosis, se observan también agregados de linfocitos B y T en meninges, recubriendo los surcos corticales profundos y también los espacios perivasculares, se ha observado destrucción parcial o total de exones sobre todo si se encuentran dentro de lesiones fuertemente inflamatorias, por lo tanto la esclerosis múltiple no solo se trata de un trastorno de desmielinización sino que también las alteraciones neuronales contribuyen a una discapacidad neurológica irreversible.

Fisiología

Se dice que la conducción nerviosa en los axones mielínicos es saltatoria, es decir que el impulso va de un nódulo de Ranvier a otro sin despolarizar la membrana del axón sobre la que esta la vaina de mielina en la zona intermodal. En esclerosis

múltiple existe un bloqueo de la conducción cuando el impulso nervioso no puede atravesar el segmento desmielinizado, dicho bloqueo es temporal ya que mientras la membrana del axón en reposo se hiperpolariza por la exposición de canales de potasio dependientes de voltaje que se encuentran ocultos bajo la vaina de mielina, los canales de sodio contenidos en los nódulos se distribuyen a lo largo del axón desmielinizado permitiendo que la conducción continúe. El bloqueo incompleto o temporal afecta los impulsos de alta frecuencia pero no los de baja; un bloqueo variable se presenta en hipertermia corporal o alteraciones metabólicas por lo tanto en MS se presentan fluctuaciones de conducción de una hora a otra o en presencia de fiebre o posteriores a la realización de ejercicio.

Epidemiología.

La esclerosis múltiple es mas frecuente en mujeres que en hombres con una relación de 3 a 1, el rango de edad para el inicio del padecimiento oscila entre los 20 y 50 años, cabe destacar que el inicio en hombres es tardío comparado con las mujeres, se ha documentado inicio de la enfermedad antes de los 18 años de edad en un 10% de los casos reportados y con menor porcentaje antes de los 10 años.

Geográficamente se ha observado mayor prevalencia al norte de Escocia teniendo un reporte de 250 casos por 100,000 personas en las islas Orkney; en zonas templadas como el norte de Estados Unidos y Europa, así como el sur de Australia y Nueva Zelanda la prevalencia es de 0.1 a 0.2% mientras que en los trópicos como Asia, África ecuatorial y el oriente cercano la prevalencia suele ser de 10 a 20 veces menor. Cabe destacar que el desplazamiento ambiental en los últimos 50 años ha jugado un rol importante en la prevalencia de la enfermedad que también se encuentra relacionado con la alta susceptibilidad del sexo femenino a dicho cambio ambiental.

Los factores de riesgo para esclerosis múltiple incluyen: deficiencia de vitamina D, exposición al virus de Epstein Barr (EBV) y tabaquismo, además datos recientes han demostrado que concentraciones elevadas de sodio dietético activan linfocitos T patógenos autorreactivos.

Esclerosis múltiple y resistencia a la insulina

Se ha reportado que existe disminución de la sensibilidad a la insulina con hiperinsulinemia postprandial en pacientes con esclerosis múltiple.¹⁴ Una serie de estudios han establecido que la resistencia a la insulina se encuentra involucrada en la inflamación sistémica crónica además de se encuentra asociada a enfermedades neurodegenerativas.²⁸ Además de que el estrés oxidativo y la adiposidad están asociados de manera directa con la resistencia a la insulina y existe una mayor prevalencia en pacientes con puntaje de discapacidad alto por lo que podría relacionarse con una menor actividad física en el paciente.¹³

Consideraciones genéticas

Las personas caucásicas presentan mayor riesgo de presentar esclerosis múltiple en comparación con los africanos o asiáticos incluso cuando llegan a residir bajo el mismo ambiente. La susceptibilidad a padecer esclerosis múltiple es poligénica, el gen HLA-DRB1 en MHC clase II se encuentra asociado en un 10%, estudios de asociación genómica han encontrado cerca de 110 variantes de susceptibilidad para esclerosis múltiple.

Inmunología

Actualmente se sugiere que la patogenia de la esclerosis múltiple es debida a una respuesta autoinmunitaria proinflamatoria dirigida contra un componente de la mielina del SNC.

La proteína básica de mielina (MBP) es una proteína intracelular que de manera general participa en la compactación de mielina y es un antígeno contra el cual reaccionan los linfocitos T de modo experimental; sin embargo, también se han encontrado linfocitos T reactivos en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) y en el interior de las lesiones presentes en esclerosis múltiple; además parece ser necesaria la activación de linfocitos B y presencia de anticuerpos para el desarrollo de las lesiones de desmielinización.

En etapas tempranas de la enfermedad la mayor parte de la actividad es asintomática y se ha observado que en lesiones tempranas en remisión la actividad inflamatoria es mas frecuente dependiendo de las recaídas.

Neurodegeneración

Cada que se produce una lesión nueva existe daño en los axones siendo la perdida acumulativa de axones la principal causa de incapacidad neurológica progresiva e irreversible en la esclerosis múltiple. Se tiene documentado que hasta un 70% de los axones se pierden en los haces corticoespinales laterales en pacientes con parapesia avanzada por esclerosis múltiple y la resonancia magnética ha evidenciado que existe pérdida axónica progresiva con el paso del tiempo en lesiones ya establecidas y que se consideraban inactivas. Al existir desmielinización se produce un menor apoyo trófico para los axones, una redistribución de los conductos iónicos, así como una desestabilización de los potenciales de acción de membrana y si bien los axones se adaptan al inicio, al fina existe degeneración distal y retrograda, por tal motivo la remielinización es un de los principales objetivos terapéuticos, aunque en la actualidad no existe tratamiento que cumpla con esa característica.²¹

Manifestaciones clínicas

El inicio de las manifestaciones puede ser súbito o insidioso e incluso muchos de los síntomas son tan comunes e inocuos que es posible que sean confundidos o que se busque atención después de meses o años. Existen crisis recurrentes de disfunción neurológica focalizada que pueden durar semanas o incluso meses y su recuperación es variable. Los síntomas se pueden agravar ante situaciones de fatiga, estrés, ejercicio o calor.

Las manifestaciones mas comunes incluyen debilidad, polaquiuria, síntomas sensitivos, dificultades visuales, alteraciones en la marcha y la coordinación; en cuanto a la afectación motriz puede manifestarse como una extremidad pesada, rígida o débil, además es común la sensación de hormigueo, espasticidad hiperreflexia y signo de Babinsky. Otra manifestación es la neuritis óptica que produce visión borrosa monocular siendo principalmente afectado el campo visual central, se puede presentar dolor retroorbitario que es mayor cuando se realiza el movimiento ocular. Si existe afectación del tronco encefálico se puede presentar diplopía, nistagmo, vértigo, dolor facial, entumecimiento, debilidad, hemiespasma o mioquimia. La ataxia, temblores y disartria son el reflejo de trastorno de las vías cerebelosas. Un signo característico de afectación de la médula espinal cervical es el signo de Lhermitte que se presenta al flexionar el cuello como una sensación momentánea similar a un choque eléctrico.²² En el cuadro 1 se presentan los criterios diagnósticos de la esclerosis múltiple.²³

Cuadro 1. Criterios diagnósticos de la esclerosis múltiple ²³	
Presentación clínica	Datos adicionales para el diagnóstico
Dos o más crisis; evidencia clínica objetiva de dos o más lesiones o signos clínicos objetivos de una lesión con indicios históricos razonables de una crisis previa	Ninguno
Dos o más crisis; evidencia clínica objetiva de una lesión	Diseminación espacial, demostrada por: <ul style="list-style-type: none">• Más de una lesión en la MRI T2 en al menos dos de cuatro regiones del SNC típicas de MS (periventricular, yuxtacortical, infratentorial o de médula espinal)<li style="text-align: center;">o• Esperar una crisis clínica más que afecte a un sitio diferente en el SNC

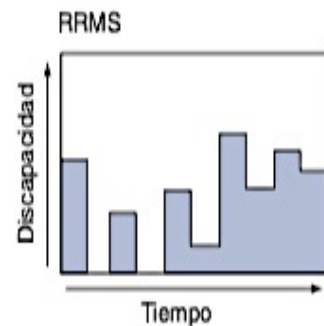
<p>Una crisis; datos clínicos objetivos de dos o más lesiones</p>	<p>Diseminación temporal, demostrada por:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presencia simultánea, en cualquier momento, de lesiones asintomáticas realizadas y no realizadas por gadolinio <ul style="list-style-type: none"> o • Una nueva lesión en T2 y/o lesión(es) intensificada(s) por gadolinio en una MRI de seguimiento, sin importar su tiempo de aparición en referencia a una detección basal <ul style="list-style-type: none"> o <ul style="list-style-type: none"> • Esperar una segunda crisis clínica
<p>Una crisis; evidencia clínica objetiva de una lesión (síndrome clínicamente aislado)</p>	<p>Diseminación espacial y temporal, demostrada por:</p> <p>Para diseminación espacial</p> <ul style="list-style-type: none"> • Una o más lesiones en T2 en al menos dos de cuatro regiones típicas de MS del SNC (periventricular, yuxtacortical, infratentorial o de médula espinal) <ul style="list-style-type: none"> o • Esperar una segunda crisis clínica que afecte a un sitio diferente en el SNC y <p>Para diseminación temporal</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presencia simultánea, en cualquier momento, de lesiones asintomáticas realizadas y no realizadas por gadolinio <ul style="list-style-type: none"> o • Una nueva lesión en T2 o realizada por gadolinio en una MRI de seguimiento, sin importar su tiempo de aparición en referencia a una detección basal <ul style="list-style-type: none"> o <ul style="list-style-type: none"> • Esperar una segunda crisis clínica
<p>Progresión neurológica insidiosa indicativa de MS (PPMS)</p>	<p>Un año de progresión de la enfermedad (determinada de forma retrospectiva o prospectiva)</p> <p style="text-align: center;"><i>más</i></p> <p>Dos de tres de los criterios siguientes:</p> <p>Evidencia de diseminación espacial en el <i>cerebro</i>, con base en una o más lesiones</p>

	<p>en T2⁺ en las regiones típicas de MS periventricular, yuxtacortical o infratentorial</p> <p>Evidencia de diseminación espacial en la <i>médula espinal</i>, con base en dos o más lesiones en T2⁺ en la médula</p> <p>LCR positivo (evidencia de enfoque isoelectrico de bandas oligoclonales o índice IgG elevado)</p>
--	--

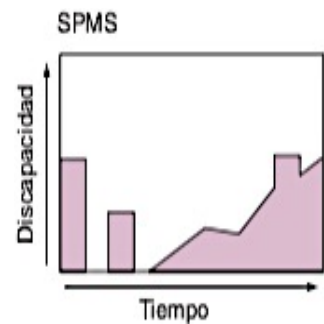
Evolución de la enfermedad.

Se han descrito cuatro tipos de esclerosis múltiple:

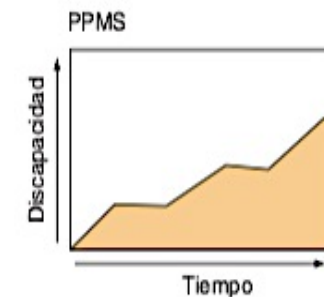
1. Esclerosis múltiple recidivante/remitente (RRMS): Abarca al 85% de los casos de esclerosis múltiple de inicio, su principal característica es la presencia de ataques discretos con evolución de días o semanas. Al inicio frecuentemente existe recuperación sustancial o completa en las semanas o meses siguientes a la crisis pero conforme los ataques continúan la recuperación es menor. En el lapso entre las crisis las funciones neurológicas son estables.



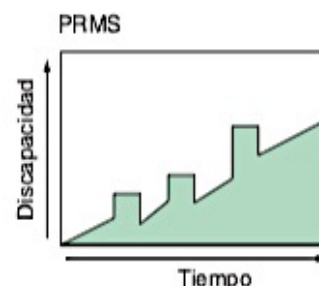
2. Esclerosis múltiple progresiva secundaria (SPMS): Inicia igual que la RRMS, sin embargo en un punto de la evolución se manifiesta un cambio presentándose un deterioro continuo de las funciones sin relación con los ataques agudos. Origina un grado mayor de discapacidad neurológica. El riesgo para pacientes con RRMS de desarrollar SPMS es de 2% por año, lo que quiere decir que la mayoría de los pacientes con la forma RRM evolucionara a SPMS.



3. Esclerosis múltiple progresiva (PPMS): Presente en alrededor el 15% de los casos con esclerosis múltiple. Los pacientes no presentan ataques sino un deterioro constante desde el inicio del padecimiento. La distribución en genero es equitativa en este padecimiento e inicia en etapas avanzadas de la vida (mediana de 40 años) y la incapacidad se desarrolla con rapidez.



4. Esclerosis múltiple progresiva/recidivante (PRMS): Comprende alrededor del 5% de los casos de pacientes con esclerosis múltiple. Presenta un deterioro incesante en su evolución desde que comienza la patología manifestándose además ataques a lo largo de la evolución.



Además de la clasificación de tipos de esclerosis múltiple, existen sistemas de cuantificación que permiten evaluar tanto el estado funcional del paciente (cuadro 2) como el estado de discapacidad (cuadro 3).

Cuadro 2. Puntuación del estado funcional (FS)	
<p>A. Funciones piramidales</p> <p>0. Normal</p> <p>1. Signos anormales sin discapacidad</p> <p>2. Discapacidad mínima</p> <p>3. Paraparesias o hemiparesias leves o moderadas o monoparesia acentuada</p> <p>4. Paraparesias o hemiparesias acentuadas, tetraparesias moderadas o monoplejía</p> <p>5. Paraplejía, hemiplejía o tetraparesia acentuada.</p> <p>6. Tetraplejía</p> <p>B. Funciones cerebelosas</p> <p>0. Normal</p> <p>1. Signos anormales sin discapacidad</p> <p>2. Ataxia leve</p> <p>3. Ataxia troncal o de extremidades moderada</p> <p>4. Ataxia acentuada de todas las extremidades</p> <p>5. Incapaz de realizar movimientos coordinados a causa de la ataxia</p> <p>C. Funciones del tronco encefálico</p> <p>0. Normal</p> <p>1. Signos únicamente</p> <p>2. Nistagmo moderado u otra capacidad leve</p> <p>3. Nistagmo acentuado, debilidad</p>	<p>5. Pérdida (esencialmente) de la sensación en 1 o 2 extremidades, o disminución moderada del sentido del tacto o del dolor, y/o pérdida de la propiocepción en casi todo el cuerpo por debajo de la cabeza.</p> <p>6. Se pierde esencialmente la sensación por debajo de la cabeza.</p> <p>E. Defecación y micción</p> <p>0. normal</p> <p>1. urgencia, dificultad para el inicio de la micción o retención leve</p> <p>2. Urgencia, dificultad para iniciar la micción, retención fecal o urinaria leve o incontinencia urinaria rara</p> <p>3. Incontinencia urinaria frecuente</p> <p>4. Necesidad de sonda vesical casi constante</p> <p>5. Pérdida de la función vesical</p> <p>6. Pérdida de las funciones vesical y rectal</p> <p>F. Funciones visuales u ópticas</p> <p>0. Normal</p> <p>1. Escotoma con agudeza visual (corregida) que excede 20/30</p> <p>2. Ojo peor con escotoma con agudeza visual máxima (corregida) de 20/30 a 20/59</p>

<p>acentuada de músculos extraoculares o discapacidad moderada de otros pares craneales</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Disartria u otra discapacidad acentuada. 5. Incapacidad de deglutir o hablar. <p>D. Funciones sensitivas</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Normal 1. Disminución únicamente del sentido de la vibración o el dibujo de figuras en una o dos extremidades. 2. Disminución leve en el sentido del tacto, del dolor o del sentido de la posición y disminución moderada del sentido de la vibración en 1 o 2 extremidades, o disminución sola del sentido de vibración en 3 o 4 extremidades. 3. Disminución moderada del sentido del tacto, el dolor o la posición, y/o perdida esencial del sentido de vibración de 1 o 2 extremidades, o disminución leve del sentido del tacto o del dolor, y/o disminución moderada en todas las pruebas propioceptivas en 3 o 4 extremidades. 4. Disminución acentuada del sentido del tacto o el dolor o la perdida de la propiocepción, sola o combinada en 1 o 2 extremidades, o disminución moderada del sentido del tacto o el dolor y/o disminución acentuada de la propiocepción en mas de 2 extremidades. 	<ol style="list-style-type: none"> 3. Ojo peor con gran escotoma o disminución moderada de los campos visuales, pero con agudeza visual máxima (corregida) de 20/60 a 20/99 4. Ojo peor con notable disminución de campos visuales y agudeza máxima (corregida) de 20/100 a 20/200; grado 3 y además agudeza máxima del mejor ojo de 20/60 o menor 5. Ojo peor con agudeza visual máxima (corregida) menor de 20/200 grado 4 y además agudeza máxima del ojo mejor de 20/60 o menos 6. Grado 5 y además agudeza visula máxima del ojo mejor de 20/60 o menos <p>G. Funciones cerebrales o mentales</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Normal 1. Sólo alteraciones del estado de animo(no afecta la puntuación EDSS) 2. Disminución leve de los procesos mentales 3. Disminución moderada de los procesos mentales 4. Disminución acentuada de los procesos mentales 5. Síndrome encefálico crónico profundo o persona incompetente
---	---

Cuadro 3. Puntuación expandida de Kurtzke del estado de discapacidad (EDSS)	
0.0 Exploración neurológica normal (todos los componentes de la prueba están en el grado 0 de estado funcional (FS))	6.0 Se necesita auxilio unilateral para caminar 100m con lapsos de reposo o sin ellos
1.0 No hay discapacidad, signos mínimos en un FS (es decir, grado 1)	6.5 Se necesita auxilio bilateral constante para caminar 20 m sin reposar
1.5 No hay discapacidad, signos mínimos en varios FS(más de un grado 1)	7.0 Imposibilidad de caminar mas de 5m incluso con auxilio; persona en silla de ruedas obligadamente; conduce por si mismo la silla y cambia de sitio solo.
2.0 Discapacidad mínima en un FS (un FS de grado 2, otro de grado 0 o 1)	7.5 No puede caminar más que pocos pasos; obligadamente requiere silla de ruedas; puede necesitar auxilio para cambios de sitio o transferencia
2.5 Mínima discapacidad en dos FS (dos FS de grado 2, otros en 0 o 1)	8.0 Persona confinada esencialmente a la cama o silla de ruedas o que apenas se desplaza en esta última, pero fuera del lecho la mayor parte de día; aún es autosuficiente en muchas de las funciones de atención personal; por lo general usa eficazmente los brazos.
3.0 Moderada discapacidad en un FS(un FS de grado 3, otros en 0 o 1) o discapacidad leve en tres o cuatro FS (tres o cuatro FS de grado 2; otros en 0 o 1) aunque la persona es totalmente ambulatoria.	8.5 Persona confinada esencialmente a la cama gran parte del día; retiene todavía parte del uso eficaz de los brazos y puede desempeñar algunas funciones de cuidado personal
3.5 Persona totalmente ambulatoria pero con discapacidad moderada en un FS (uno grado 3) y uno o dos FS de grado 2; o dos FS de grado 3, o cinco FS de grado 2 (otros en 0 o 1)	9.0 Persona en cama, totalmente dependiente, puede comunicarse y comer.
4.0 Persona ambulatoria que no necesita auxilio ni reposar en un tramo de 500m	9.5 Individuo en cama, totalmente dependiente, no puede comunicarse ni comer
4.5 Persona ambulatoria que no necesita auxilio ni reposar en un tramo de 300 m	10.0 Fallecimiento por MS
5.0 Persona ambulatoria que no necesita auxilio ni reposar en un tramo de 200m	
5.5 Persona ambulatoria que no necesita auxilio ni reposar en un tramo de 100m	

Estudios de gabinete y laboratorio.

Resonancia magnética: Es útil para el diagnóstico y tratamiento de la esclerosis múltiple, en aproximadamente el 95% de los enfermos se observan anomalías características de la enfermedad, aunque mas del 90% de las lesiones observadas son asintomáticas. Cabe destacar que la resonancia debe ser realizada con medio de contraste debido a que es necesario identificar si existe un incremento en la

permeabilidad vascular por interrupción de la barrera hematoencefálica, el cual es evidente por la fuga de gadolinio intravenoso al interior del parénquima cerebral; es posible observar dicho evento de manera temprana en la evolución de una lesión por esclerosis múltiple además de ser un marcador de inflamación.

Estudio de Líquido cefalorraquídeo (LCR): Dentro de las anomalías presentes en LCR se encuentra la pleocitosis de mononucleares (mas de 5 células / μ l) y mayor concentración de IgG sintetizada de forma intratecal. Los valores de proteína total se encuentran normales, la determinación por electroforesis de bandas oligoclonales también valora la producción intrarraquídea de IgG, se detectan de una a dos bandas en aproximadamente el 75% de los pacientes aunque pueden o no aparecer al inicio de la enfermedad y en algunos pacientes aumenta el número de bandas conforme pasa el tiempo.

Pronóstico

La mayoría de los pacientes con esclerosis múltiple presentan discapacidad neurológica progresiva, se tienen registros que 15 años posteriores al diagnóstico sólo el 20% de los pacientes no tendrán limitaciones funcionales, la mitad habrá avanzado hasta SPMS y a 25 años el 80% habrá alcanzado ese grado de discapacidad. Por lo tanto el pronóstico es variado y depende de la cantidad y tipo de ataque agudo así como de las manifestaciones clínicas. La muerte como consecuencia directa de esclerosis múltiple es infrecuente sin embargo puede ocurrir ante un ataque agudo o como consecuencia de alguna complicación de la enfermedad.

3.2 Síndrome metabólico y resistencia a la insulina.

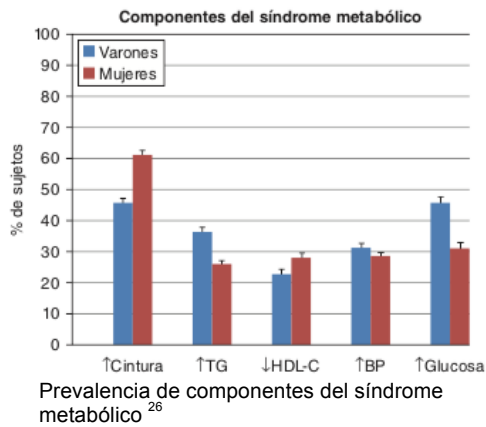
La insulina es una hormona anabólica producida por las células beta del páncreas que estimula el almacenamiento de carbohidratos y grasas, así como la síntesis de proteínas.²⁷

El síndrome metabólico, también conocido como síndrome de resistencia a la insulina o síndrome X, es un conjunto de alteraciones metabólicas que son un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular y la diabetes tipo 2, siendo sus principales características la obesidad, la hipertrigliceridemia, concentraciones bajas de colesterol HDL, hiperglucemia e hipertensión.

La resistencia a la insulina se produce por un defecto en la acción de la misma y raramente es a consecuencia de mutaciones en el receptor de la insulina que interfieren con la unión o con la transducción de señales.

Su prevalencia varía entre los grupos étnicos; la edad, el grado de obesidad y si quien lo presenta es propenso a diabetes tipo 2.²⁴ Según el National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) existe la prevalencia característica de

cinco componentes fundamentales en el síndrome metabólico, mismos que se presentan en la siguiente figura.



Etiología.

Existe una serie de factores de riesgo para el síndrome metabólico dentro de los cuales se encuentra el sobrepeso o la obesidad principalmente si se trata de adiposidad central, el sedentarismo, el envejecimiento, la lipodistrofia, el estrés oxidativo, la interacción entre la predisposición genética, la dieta y la flora intestinal, por lo que es probable que la causa de éste sea multifactorial.

La resistencia a la insulina por si sola es crucial en la aparición del síndrome metabólico, iniciando por una hiperinsulinemia postprandial, seguida por hiperinsulinemia en ayuno y al final por hiperglucemia. La insulina es mediadora de la antilipólisis y estimula a la lipasa en el tejido adiposo, la inhibición de la lipólisis es la vía mas sensible a la acción de la insulina, por tal motivo al desarrollarse la resistencia a esta, el aumento de la lipólisis genera más ácido grasos, lo que reduce el efecto antilipolítico de la insulina.²⁵ El incremento de metabolitos intracelulares de ácidos grasos afectan las vías de señalización de la insulina y a su vez se acumulan como triglicéridos en el músculo cardiaco y esquelético, además de que estimulan la síntesis hepática de glucosa y triglicéridos, finalmente al generarse un exceso de tejido adiposo se incrementa la producción de citocinas proinflamatorias.²⁴

Manifestaciones clínicas.

De manera general no existen síntomas específicos del síndrome metabólico, pero sus principales manifestaciones son la obesidad central, hipertrigliceridemia, concentraciones bajas de HDL, hiperglucemia e hipertensión. Existen además trastornos relacionados al padecimiento como son la diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular, esteatosis hepática no alcohólica, hiperuricemia, síndrome de ovario poliquístico y apnea obstructiva del sueño.²⁴ Como manifestaciones físicas también es frecuente encontrar acantosis nigricans y signos de hipergonadismo como hirsutismo, acné y oligomenorrea en mujeres.

Actualmente se han descrito dos tipos graves de síndrome de resistencia a la insulina:

Tipo A: Afecta principalmente a mujeres jóvenes que presentan Hiperinsulinemia grave, obesidad y datos de hiperandrogenismo, este tipo de pacientes presentan un defecto no precisado en la vía de señalización de la insulina.

Tipo B: Afecta mujeres de mediana edad y se caracteriza por hiperinsulinemia grave, rasgos de hiperandrogenismo y trastornos autoinmunitarios, este tipo de pacientes presentan autoanticuerpos contra el receptor de la insulina que pueden bloquear la unión de la insulina o estimular al receptor, provocando hipoglucemia intermitente.²⁷

Diagnóstico.

Los criterios diagnósticos establecidos por el National Cholesterol Education Program and Adult Treatment Panel III (NCEP:ATPIII) establecen que debe cumplirse con tres o más de los siguientes elementos:

- Obesidad central: circunferencia abdominal mayor a 102 cm para hombres y mayor a 88 cm para mujeres.
- Hipertrigliceridemia: niveles de triglicéridos mayores o iguales a 150mg/100mL
- Colesterol HDL: menor a 40 mg/100 mL en varones y menor a 50 mg/100mL en mujeres.
- Hipertensión: Presión arterial sistólica mayor o igual a 130mmHg o diastólica mayor o igual a 85mmHg.
- Glucemia en ayuno mayor o igual a 100mg/100mL o previo diagnóstico de diabetes tipo 2.

Además existen criterios de definición armonizadores del síndrome metabólico de los cuales deben ser cumplidos al menos tres de los siguientes elementos:

- Circunferencia abdominal (cm)

Varones	Mujeres	Grupo étnico
>94	>80	Europa, África subsahariana, Oriente y Oriente cercano
>90	>80	Sureste de Asia, China y etnias de América del Sur y Central.
>85	>90	Japoneses

- Concentración de triglicéridos en ayuno mayores a 150mg/100mL
- Concentración de colesterol HDL menor a 40 mg/100 mL en varones y menor a 50 mg/100mL en mujeres
- Presión arterial sistólica mayor a 130mmHg o diastólica mayor a 85mmHg.
- Glucemia en ayuno mayor o igual a 100mg/100mL.²⁴

Pronóstico

El pronóstico de la enfermedad dependerá de la atención oportuna de las alteraciones metabólicas, tratamiento para corregir el nivel de ácidos grasos y modificación del estilo de vida.

3.2.1 ÍNDICE HOMA

El índice HOMA (por sus siglas en Inglés Homeostasis Model Assessment), es un procedimiento simple y poco invasivo, fue propuesto por Mathews y colaboradores en 1985. Se deriva de la interacción entre la función de las células beta del páncreas y la sensibilidad a la insulina en un modelo matemático donde se utilizan las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno.¹⁰ El modelo se calibra con una función de células beta del páncreas del 100% y una resistencia a la insulina normal de 1 de acuerdo a la siguiente fórmula:

HOMA-IR= [insulina plasmática en ayuno (μ U/ ml)*glucosa plasmática en ayuno (mmol/L)]/22.5.

Es importante tomar en cuenta que existen factores fisiológicos, genéticos y ambientales que pueden alterar los valores de HOMA-IR entre las diversas poblaciones y que es necesario considerar este tipo de variaciones para establecer puntos de corte y valores de referencia para la prueba.^{35,36}

3.2.2 QUANTOSE RI.

La resistencia a la insulina puede presentarse incluso 10 años de existir un cambio en las mediciones de glucosa en sangre periférica y como se menciono con anterioridad es uno de los primeros signos de prediabetes, diabetes y alteraciones cardiovasculares, sin embargo se ha demostrado que si la prediabetes y la diabetes se detectan de manera temprana su tratamiento es más efectivo y las complicaciones que se pudieran presentar podrían prevenirse así como lograr un retraso en la progresión de la hiperglucemia.

Los estudios de laboratorio existentes antes de Quantose RI permiten un diagnóstico de prediabetes y diabetes cuando se ha perdido aproximadamente un 70 a 80% de la funcionalidad de las células beta del páncreas.

Quantose RI es una prueba de laboratorio, simple, de diagnóstico rápido, que evalúa la resistencia a la insulina mediante la detección de cambios metabólicos, incluso antes de que se detecten cambios en los niveles de glucosa séricos. El valor de Quantose parte de la determinación de los niveles plasmáticos de Insulina, ácido α -hidroxibutírico (α -HB), ácido oleico y Linoleil-glicerofosfolina (L-GPC).

El incremento de insulina es característico de la resistencia a ésta, pero los otros tres biomarcadores también son fundamentales para el diagnóstico, el ácido α -hidroxibutírico se encuentran relacionados positivamente con el padecimiento y además es indicativo de disfunción de las células beta del páncreas, el Linoleil-glicerofosfocolina se relaciona negativamente con la resistencia a la insulina y la tolerancia a la glucosa y por último el ácido oleico se encuentra relacionado con el incremento en la lipólisis.

La concentración obtenida para cada analito es registrada en la pagina en internet propiedad de Metabolon Inc. para el análisis algorítmico y la obtención del puntaje de Quantose cuyo resultado es fácil de interpretar ya que se emite en una gráfica de semáforo que tiene una puntuación que va del 0 al 120 donde el punto de corte es 63 y los valores superiores a el denotan una mayor resistencia a la insulina.



El reporte además se encuentra acompañado de las concentraciones plasmáticas de insulina, ácido α -hidroxibutírico (α -HB), ácido oleico y Linoleil-glicerofosfocolina (L-GPC).

Ventajas.

- Clasifica a los pacientes con base en el riesgo de progresión del padecimiento.
- Proporciona una medida confiable de los cambios que se presentan en la sensibilidad a la insulina.
- Es útil para evaluar el impacto sobre el paciente de las medidas preventivas y el tratamiento farmacológico.
- No es dependiente de los valores de glucosa en comparación con el índice HOMA.
- Es posible el diagnóstico de pacientes con resistencia a la insulina con valores de HbA1C normales.

Población de estudio.

- Adultos con riesgo de desarrollar Diabetes tipo 2 de acuerdo a las guías de la Asociación Americana de Diabetes (ADA).
- Adultos con sobrepeso u obesidad ($IMC \geq 25kg/m^2$), y que tengan uno o mas de los siguientes factores de riesgo:
 - o Hipertensión ($\geq 140/90$ mmHg) o en tratamiento de ella.
 - o Colesterol HDL $<35mg/dL$ o triglicéridos >250 mg/dL
 - o Origen étnico de alto riesgo (Afroamericano, latino, nativo americano, isleño del Pacífico)
 - o Antecedentes familiares de riesgo.

- Pacientes diagnosticados con resistencia a la insulina que se encuentran bajo control terapéutico y/o cambios en el estilo de vida.
- Pacientes diagnosticadas con diabetes gestacional o síndrome de ovario poliquístico.
- Pacientes con historia de enfermedad cardiovascular.^{29,30}

Seguimiento y control

- Después de 6 meses del inicio de la intervención terapéutica y una vez que el peso se ha estabilizado.
- Cada 12-24 meses para pacientes negativos a resistencia a la Insulina determinada por Quantose RI pero que tienen factores de riesgo asociados y antecedentes familiares.²⁹

Estudio analítico.

Para un resultado confiable Metabolon Inc. establece que las determinaciones de la concentración de los analitos deben ser realizadas por métodos y equipos estandarizados y aprobados, siendo así que para la determinación de insulina es necesario el empleo del equipo Architect de Abbott que consiste en un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas y para la determinación de los 3 biomarcadores es necesario el empleo de espectrometría de masas (UPLC-MS/MS).^{29,30}

3.2.2.1 Cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (UPLC/MS/MS)

Espectrometría de Masas

La espectrometría de masas presenta una alta especificidad analítica, así como un amplio campo de aplicación, permite realizar determinaciones que proporcionen información tanto cualitativa como cuantitativa en una única prueba, es útil para identificar la estructura química así como la masa molecular de un compuesto independientemente del tamaño además de su patrón de fragmentación. Se basa en la ionización de compuestos químicos donde los iones que se forman son cargados positiva o negativamente para separarlos y clasificarlos de acuerdo a su relación de masa y carga mediante un campo magnético. Es aplicable a elementos y todo tipo de muestras ya sean volátiles o no volátiles, polares y apolares, sólidos, líquidos y gases.

El análisis se realiza de manera general en cuatro etapas:

1. Introducción de la muestra: Se lleva a cabo ya sea por un sistema directo o indirecto o por sistemas acoplados a técnicas de separación.

2. Ionización de la muestra: En esta etapa los átomos o moléculas se transforman en especies iónicas en fase gaseosa, perdiendo electrones o protones.
3. Separación y análisis de los iones moleculares y de los fragmentos cargados producidos según su relación masa/carga.
4. Obtención del espectro de masas, en el que se presenta la abundancia relativa de los iones y fragmentos separados respecto a la relación masa/carga.

Los elementos básicos del espectrómetro de masas son los siguientes:

- Sistema de introducción de la muestra
- Sistema de ionización
- Analizador de masas
- Detector
- Sistema de vacío
- Sistema de adquisición y tratamiento de datos.

Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución (UPLC)

Es un método que consiste en separar los analitos solubilizados en una muestra líquida mediante una columna en la cual la mezcla se difunde a través de poros de acuerdo a la polaridad o interacción del analito con dicha columna (fase estacionaria) y el eluyente (fase móvil).

En el caso de los componentes en estudio que presenten una interacción mayor con la fase estacionaria se obtendrá un tiempo de retención mayor, el cual es determinado con base a la interacción del analito y las fases, así como con el gradiente de los disolventes, la presión y la velocidad de flujo de la fase móvil.

Una vez que los analitos se encuentran separados por la fase estacionaria, deberán ser identificados mediante un detector ya sea de espectrometría de masas, fluorescencia, absorbancia UV o electroquímico, el cual será seleccionado dependiendo del compuesto en estudio.

Si la Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución (UPLC) se encuentra relacionada a espectrometría de masas, requiere un sistema especial de entrada, combinado con la fuente iones para obtener de manera inicial un haz de iones positivos o negativos que es acelerado por una diferencia de potencial, hacia el interior del analizador de masas, teniéndose como consecuencia la fragmentación específica de las moléculas constituyendo así el patrón de fragmentación.^{33,34}

3.2.2.2 Inmunoensayo Quimioluminiscente de micropartículas

Un inmunoensayo es una prueba de laboratorio cuya principal característica es el empleo de complejos de antígeno y anticuerpo para generar un resultado medible. Utiliza anticuerpos con alta especificidad y afinidad para un antígeno determinado, dicho antígeno es un analito de interés que puede ser propio del organismo o ajeno a él, cabe destacar que la técnica también permite el uso de antígenos específicos si lo que se desea es la búsqueda de un anticuerpo en particular. La medición del resultado es posible gracias a la adición de un material marcado a la prueba que evidencie la formación del inmunocomplejo; el compuesto marcado puede ser radioactivo, de reacción enzimática que genere un cambio de coloración en la solución donde se lleva a cabo la reacción o una sustancia productora de luz.

Los tipos de inmunoensayo se mencionan a continuación:

- Inmunoensayo competitivo: El analito de interés (antígeno por lo general) es medido por la capacidad que presenta para competir contra un antígeno marcado por un sitio de unión específico en el anticuerpo presente; por lo tanto el medir menor señal en el ensayo quiere decir que existe mayor concentración del antígeno de interés, es decir la concentración es inversamente proporcional a la señal.

Existen dos tipos de formatos competitivos:

- o De un solo paso: Tanto el antígeno marcado como la muestra compiten por una cantidad determinada de anticuerpo
 - o De dos pasos: La concentración de anticuerpo es conocida pero se encuentra en exceso comparado con la concentración de antígeno de interés. El anticuerpo y antígeno de interés son puestos en contacto y se realiza una incubación de la reacción para favorecer la unión para posteriormente en un segundo paso agregar el antígeno marcado.
- Inmunoensayo no competitivo (Sándwich): Es el formato que proporciona mayor nivel de sensibilidad y especificidad por tal motivo es más común emplearlo para mediciones de analitos críticos. Es conocido también como técnica de sándwich debido a que el analito de interés se encuentra entre dos anticuerpos altamente específicos para él, siendo uno de ellos el que presenta el marcaje para permitir la medición, la cual es directamente proporcional a la concentración de analito en la muestra. En este tipo de ensayo también permite su realización en uno o dos pasos, siendo el de dos pasos el de mejor resultado ya que emplea etapas de lavado que eliminan exceso de anticuerpo no unido y sustancias que pudieran interferir en la determinación.

A su vez los inmunoensayos pueden ser homogéneos si no requieren la separación del inmunocomplejo y analito no unido o heterogéneos que requieren la separación de éstos y que por lo regular emplean un reactivo de fase sólida como por ejemplo una partícula magnética o una esfera.

Existen cinco técnicas de inmunoensayo:

- Radioinmunoensayo (RIA): Emplea isótopos radioactivos marcados y la concentración de radioactividad medida es proporcional a la concentración del analito presente. Es útil para la detección de cantidades muy bajas de analitos sin embargo debido a los riesgos en el empleo de la técnica su uso cada vez es menos frecuente.
- Inmunoensayo enzimático (ELISA): Emplea enzimas marcadas como la fosfatasa alcalina, la peroxidasa de rábano picante y la galactosidasa B para la medición de la reacción la cual puede ser evidenciada por un cambio de color, emisión de luz u otra señal. Representa una aplicación del tipo sándwich heterogéneo que combina una enzima-anticuerpo marcado con un anticuerpo unido a una fase sólida.
- Inmunoensayo por polarización de Fluorescencia (FPIA): Es un inmunoensayo homogéneo competitivo por fluorescencia donde el antígeno de interés compete con el reactivo marcado antígeno-fluoresceína (AgF) por los puntos de unión en el anticuerpo y la medición se lleva a cabo gracias a la combinación de fluorescencia, rotación de moléculas en solución y luz polarizada. Es útil principalmente para determinaciones de concentración bajas de analitos toxicológicos y algunas hormonas.
- Inmunoensayo por micropartículas (MEIA): Es una técnica no competitiva que utiliza el aislamiento de complejos antígeno/anticuerpo en una superficie de fase sólida denominada micropartícula. Es útil para la medición de moléculas grandes. Sus componentes son las micropartículas de látex recubiertas con un anticuerpo para unirse al analito específico, un conjugado de fosfatasa alcalina unida al anticuerpo y el sustrato de la enzima que es la fosfatasa 4-Metil Umbelliferona Fluorescente (MUP), además de una matriz de vidrio que sirve para fijar los complejos.
- Inmunoensayo Magnético Quimioluminiscente (CMIA): Emplea compuestos quimioluminiscentes cuya finalidad es la emisión de luz al ser combinado con un reactivo "trigger" (desencadenante), cada instrumento de laboratorio tiene una tecnología quimioluminiscente con un marcador específico y patentado, en el caso de Abbott ARCHITECT, el marcador es un derivado de acridina que produce una alta emisión de

luz y por lo tanto mayor sensibilidad. La reacción es muy similar a la de MEIA pero a diferencia de ella, emplea como fase sólida una micropartícula magnética, su etapa de separación es mediante un imán, el marcador es un compuesto quimioluminiscente y su tecnología de detección es un tubo fotomultiplicador de quimioluminiscencia. Al ser un inmunoensayo no competitivo la señal detectada será directamente proporcional a la concentración del analito.^{31,32}

4. FORMULACION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION

Estudios previos han demostrado que existe una relación entre resistencia a la insulina, adiposidad, estrés oxidativo y pacientes con esclerosis múltiple, sin embargo dichas investigaciones han realizado el estudio empleando métodos diagnósticos como HOMA para evaluar la relación existente.

El estudio propuesto en este trabajo permite evaluar la utilidad de la determinación de Quantose score que es un método más sensible y específico comparados con los empleados previamente para el diagnóstico de resistencia a la insulina en pacientes con esclerosis múltiple tomando en cuenta que a partir del resultado se pueda realizar una modificación terapéutica si así lo requiere el estado metabólico del paciente y de esta manera prevenir que alteraciones en el metabolismo de la glucosa se sumen como comorbilidades de la esclerosis múltiple.

5. OBJETIVOS E HIPOTESIS

5.1 OBJETIVOS

Determinar la prevalencia de la resistencia a insulina en pacientes con esclerosis múltiple utilizando la puntuación del método metabólico Quantose.

Analizar la asociación de resistencia a la insulina con el grado de discapacidad en pacientes con esclerosis múltiple así como su relación con otros parámetros clínicos.

5.2 HIPÓTESIS

Hipótesis nula H0: Existe asociación entre resistencia a la insulina y esclerosis múltiple.

Hipótesis alternativa H1: No existe asociación entre resistencia a la insulina y esclerosis múltiple.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 MATERIAL

En un periodo de 6 meses y en una sola institución se realizó la extracción de muestra sanguínea para realizar la detección de resistencia a la insulina utilizando la prueba integral de Quantose a pacientes con Esclerosis múltiple candidatos a trasplante autólogo de células troncales hematopoyéticas.

6.2 ESTIMACIÓN DE RESISTENCIA A LA INSULINA

El análisis de resistencia a la insulina se realizó antes de la administración de cualquier medicamento para el protocolo de trasplante, además de que los pacientes habían suspendido inmunosupresores o medicamentos citotóxicos al menos tres meses antes de la toma de muestra sanguínea y cuidando que los pacientes cumplieran con un ayuno de 12 horas previas a la extracción de muestra.

Las muestras fueron obtenidas por venopunción en un tubo con anticoagulante EDTA, se realizó la centrifugación de las mismas y posteriormente se procedió a separar el plasma para los análisis correspondientes.

Los niveles de insulina fueron determinados en el equipo Architect de Abbott, el cual emplea un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas automatizado, mientras que los metabolitos fueron determinados mediante cromatografía de líquidos de ultra resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC/MS/MS)

6.2.1 Metodología para la determinación de Insulina en Laboratorios Ruiz

Objetivo del método

Determinación cuantitativa de los niveles de insulina en plasma (EDTA).

Equipo

Analizador Automatizado Architect Abbott

Muestreo y Muestra

- Plasma (EDTA)
- Antes del análisis, las muestras se pueden almacenar hasta 7 días a una temperatura < -10°C. No procesar muestras intensamente hemolizadas e inactivadas con calor.

Sistema analítico

- Envases de reactivos de Insulina
- Controles de Insulina
- Analizador Automatizado Architect Abbott

Uso del sistema analítico

- Introducir los reactivos de insulina y procesar los controles de acuerdo al manual de operaciones del sistema Architect Abbott
- Introducir los tubos de muestra al equipo para el análisis automatizado de la misma.

Método

Inmunoanálisis Quimioluminiscente de un paso.

La muestra, las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos anti-insulina y el conjugado de anticuerpos anti-insulina marcado con acridinio se combinan. La insulina presente en la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpos anti-insulina y el conjugado de anticuerpos anti-insulina marcado con acridinio. Después del lavado, se añaden las soluciones activadora y preactivadora a la mezcla de reacción produciéndose la reacción quimioluminiscente; la cual se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de insulina presente en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico.

Procesamiento de datos

El analizador Architect Abbott utiliza un método de cálculo de datos de ajuste a una curva logística de 4 parámetros (4PLC, Y ponderado) para calcular la curva de medición.

La curva de medición se utiliza para convertir las mediciones de RLU de las muestras de los pacientes y controles a concentraciones cuantitativas y específicas del analito.

6.2.2 Metodología para la determinación de Quantose score

Objetivo del método:

Describir la metodología para la cuantificación de los analitos Quantose IR α -hidroxibutírico (α -HB), ácido oleico (AO) y Linoleil-glicerofosfolina (L-GPC)) por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS-MS).

Equipo e Instrumentos

- Columna ACQUITY C18 BEH, 1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm, No. Cat. 186002344. Waters.
- Pre-columna ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard, 130Å, 1.7 μ m, 2.1 mm X 5 mm, No.Cat. 186003975. Waters
- Filtro en-Línea ACQUITY UPLC Columna. No. Cat. 205000343. Waters.

- Tubos de microcentrífuga 1,5 ml con tapa
- Microplacas de recolección de 96 pozos, 800 µL No. Cat. 186002481
- Cubierta de propileno para microplacas de recolección de 96 pozos de 800 µL
- Micropipeta Intervalo de medición de 2-20µl
- Micropipeta Intervalo de medición de 20-200µl
- Pipeta repetidora (volúmenes variables)
- Vórtex
- Centrífuga refrigerada
- Sistema Milli-Q Advantage A10
- Acquity UPLC Class I. Detector modelo Xevo TQ-S

Muestreo y muestra

- Tipo: Plasma (obtenido con anticoagulante K2EDTA)
- Volumen Aproximado: Óptimo: 0.8mL. Mínimo: 0.5 mL.
- Recipiente: Tubo plástico sin conservadores
- Estabilidad:
 - Temperatura Ambiente: (15 a 25°C): 6 horas.
 - Refrigerada: (2 a 8°C): 7 días.
 - Congelada:(-20°C): > 6 meses.
- Criterios de rechazo: Volumen menor al mínimo especificado

Sistema analítico

- Reactivos de α -HB, AO y L-GPC
- Soluciones preparadas de α -HB, AO y L-GPC
- Soluciones de calibración
- Soluciones de estándares internos
- Fase móvil A
- Fase móvil B
- Control de calidad (QC) alto, bajo y medio.
- Soluciones de trabajo
- Albumina de suero bovino en buffer de fosfatos

Uso del sistema analítico

- Acondicionamiento del equipo
- Preparación de soluciones
- Preparación de muestras y Controles

Método

Descongelar todas las muestras de pacientes, incluidas las *muestras QC*, que están congeladas.

- Registrar en el Template de inyección la posición de cada muestra (blanco, adecuabilidad del sistema, curva, muestras control y muestras de pacientes). Este template será el registro guía indispensable para la elaboración del *sample list* en el sistema cromatográfico correspondiente y archivado en la carpeta de resultados.
- Adecuabilidad del sistema. Pipetear 50.0 µL de agua Milli-Q en un tubo para microcentrífuga, agregar 20.0 µL del calibrador STD D del set 1, 20.0 µL del calibrador STD D del set 2, 20.0 µL de la solución de trabajo de estándares internos y 200.0 µL de solución de metanol/ ácido fórmico (99:1).
- Muestra blanco: Pipetear 50.0 µL de agua Milli-Q en un tubo para microcentrífuga, agregar 200.0 µL de solución de metanol/ ácido fórmico (99:1) y 60 µL de acetonitrilo/agua/etanol (1:1:2)
- Muestra *Blank-IS*: Pipetear 50.0 µL de agua Milli-Q en un tubo para microcentrífuga, agregar 20.0 µL de la solución de trabajo de estándares internos combinada, 200.0 µL de solución de metanol/ ácido fórmico (99:1) y 40.0 µL de acetonitrilo/agua/etanol (1:1:2).
- Muestras QC y muestras de pacientes: Pipetear 50.0 µL de las muestras QC correspondientes o muestras de pacientes, en un tubo para microcentrífuga, agregar 20.0 µL de la solución de trabajo de estándares internos combinada, 40.0 µL de acetonitrilo/agua/etanol (1:1:2) y 200.0 µL de solución de metanol/ ácido fórmico (99:1) a cada uno de los tubos.

Para todas las muestras de pacientes, muestras QC, estándares de calibración, muestra Blank y muestra Blank IS, mezclar en Vórtex durante 2 minutos, verificando que la preparación tenga una apariencia homogénea y centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos a temperatura de 4°C, hasta la formación de un sobrenadante transparente.

Transferir 50.0 µL del sobrenadante a una placa de recolección de 1 mL y agregar 200.0 µL de solución de metanol/ ácido fórmico (99:1). En el caso de la adecuabilidad, transferir 50.0 µL a la placa de recolección y agregar 200.0 µL de metanol/ ácido fórmico (99:1).

Sellar la placa con mat caps de propileno, asegurarse de que todos los pozos estén bien sellados, mezclar en multivórtex 10 segundos y analizar mediante LC-MS-MS. Todas las actividades realizadas en el sistema cromatográfico se registran en la bitácora de uso de cromatógrafo (MT-F00006).

Nota: Mantener los estándares de calibración, muestras control y muestras de pacientes en una hielera con refrigerantes, al término de su uso, regresarlos a las condiciones de almacenamiento recomendadas para cada uno.

Se recomienda preparar al mismo tiempo y en la misma placa, estándares de calibración, controles de calidad y muestras de pacientes.

Procesamiento de datos

a) Integración e inspección de picos. La información sin procesar se integra y analiza utilizando el paquete de *software Masslynx®* correspondiente al instrumento de espectrometría de masas. Todos los cromatogramas se inspeccionan visualmente para garantizar que la integración automática de picos sea aceptable. Las integraciones erróneas se corrigen al ajustar los parámetros del método de cuantificación, siempre que se requiera, obteniendo una integración consistente para todos los picos. La integración con el ajuste de parámetros se aplica a todas las muestras de una serie. Se recomienda evitar la reintegración manual, ésta es posible siempre y cuando sea menor al 10% del total de las muestras de la corrida y bajo la autorización del supervisor.

b) Determinación de la concentración del analito La línea estándar resultante se utiliza para calcular las concentraciones de las muestras a partir de allí. Mediante el software *Quanlynx* se calculan, pendiente, intersección y R (coeficiente de determinación). La información procesada se guarda y exporta a modo de texto o archivo de Excel para informar los resultados.

Criterios de repetición

Fuera de linealidad: los resultados inferiores a la linealidad se repiten sin dilución. Los resultados superiores a la linealidad se repiten con dilución. La concentración obtenida se multiplica por el factor de dilución aplicado para obtener la concentración final de la muestra. Antes de repetir el análisis confirme que el volumen y el tipo de muestra sea el adecuado.

La diferencia entre la medición anterior y la medición actual deberá ser menor al $\pm 10\%$.

c) Registro en la base de datos de Metabolon. La concentración obtenida para cada analito incluyendo la insulina es registrada en la pagina en internet propiedad de Metabolon Inc. para el análisis algorítmico y la obtención del puntaje de Quantose.

6.3 TIPO DE INVESTIGACION

Estudio descriptivo, analítico, observacional y prospectivo realizado en una sola institución.

6.4 POBLACION

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Laboratorios clínicos de Puebla y el Centro de Hematología y Medicina Interna de acuerdo a lo establecido por la Declaración de Helsinki de 1975.

6.5 MUESTRA

En el estudio se incluyó a un total de 64 pacientes con esclerosis múltiple, de los cuales 45 eran mujeres y 19 hombres. Los pacientes eran participantes de un ensayo clínico que consiste en evaluar la eficacia y seguridad del trasplante autólogo de células troncales hematopoyéticas (AHSCT por sus siglas en inglés “autologous hematopoietic stem cell transplantation”) como parte del tratamiento de esclerosis múltiple realizado en la Clínica Ruiz de Puebla.¹⁷ La mediana de edad de los pacientes fue de 46 años con un rango de edad de 21 a 73 años. El tiempo desde el diagnóstico al estudio tuvo una variación entre 0.3 a 37 años con una mediana de 10. El rango de EDSS score fue de 1 a 7.5 con una mediana de 5.5. Según la clasificación de la enfermedad 39 pacientes presentaban la forma intermitente (RRMS), 12 con la forma primaria progresiva (PPMS) y los 23 restantes presentaban la forma secundaria progresiva (SPMS).

Estudios adicionales de laboratorio necesarios para el protocolo de trasplante como la citometría hemática, análisis bioquímico y urianálisis, así como estudios de gabinete que incluye electrocardiograma y rayos x presentaron valores normales.

6.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.6.1 Criterios de inclusión

Pacientes con Esclerosis múltiple para protocolo de trasplante autólogo de células troncales hematopoyéticas.

6.6.2 Criterios de exclusión

Pacientes con Esclerosis múltiple con diagnóstico de diabetes o resistencia a la insulina.

7. ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de los resultados obtenidos se utilizó el Software MedCalc®, empleando Chi cuadrada para estimar las asociaciones no paramétricas mientras que para las asociaciones paramétricas se utilizó el análisis de regresión lineal.

8. RESULTADOS

Los valores de referencia para cada analito son los siguientes:

- Insulina 3.13–21.3 µg/mL
- α-HB 1.92–7.37 µg/mL
- L-GPC 7.60–25.4 µg/mL
- Acido oleico 25.9–114.0 µg/mL
- Quantose score
 - ≤ 63 Sensibilidad a insulina
 - > 63 Resistencia a insulina

En la tabla 1 que se muestra a continuación se encuentran los resultados obtenidos de los 64 pacientes en estudio.

Insulina	α-HB	L-GPC	Ácido oleico	Quantose score
5,3	5,64	18,3	113	66
8,6	7,81	8,99	125	85
5,3	6,26	19,6	53,9	62
3,6	2,85	21,6	49,7	31
5,5	3,89	16,9	74,7	58
20,9	6,64	10,6	118	93
7,9	8,59	16,4	93,3	79
3,8	6,39	22,5	89	56
9,6	4,01	15,4	65,3	71
5,2	2,3	16,7	69,4	45
6	4,75	17,4	56,4	61
7,3	5,01	20,4	45,9	64
4,9	3,27	19,6	39,5	44
5,9	3,68	22,7	52,1	52
7,8	2,94	19,2	28,7	52
8,7	2,07	17,6	59,5	55
5	2,54	17,8	32,1	38
6,5	4,31	16,4	59,5	63
11,9	6,17	11,8	62,3	82
5,1	3,84	22,7	39,3	47
6,6	4,08	18,3	73,5	62
5,1	3,47	17,6	26,1	44
3,9	4,34	18,1	151	56
17	5,1	12	45	84
4,9	2,11	15,8	47,8	39
6,2	4,48	9,42	67,4	69
5,8	6,13	11,8	86,3	72
5,8	5,1	7,28	48,4	70

10,1	2,59	10,2	35	65
11,4	3,21	12	62,2	73
21,4	5,37	10,4	49,9	89
7,1	2,69	18	87,2	58
7,2	5,5	13	53,6	70
10,5	2,54	19,8	45,6	61
6,2	5,06	11,2	29,4	63
10,8	3,83	18,8	34,9	67
10,2	3,89	15,6	33,7	67
5,5	2,84	19,2	50,4	47
12	3,09	12	64,9	74
5,8	1,94	27,3	7,92	15
3,6	3,01	12,8	58,4	43
12,7	2,23	13,9	71,6	69
7,9	4,19	13,4	66,8	69
8,2	5,09	16,1	53,1	70
5,9	3,68	13,8	57	59
14,1	15,49	10,2	72,3	85
5,1	6,52	8,02	67,4	72
5,9	5,05	12,2	56,5	66
5	3,66	16,9	56,6	52
3,1	2,91	9,58	91,2	46
9,8	3,38	5,91	78,2	78
9,1	4,8	12	72,9	75
7,6	4,88	15,9	57	68
3,5	4,81	24,1	52,8	43
5,4	6,82	10,3	93,6	73
16,9	3,34	29,8	28,9	68
4,3	1,91	17,3	37,9	28
4	3,6	26,9	19,4	27
8,8	3,59	20,5	17,6	55
6,9	4,29	6	51,2	72
10,8	2,14	5,47	50	72
7,2	4,66	7,55	120	77
6,2	4,91	2,73	37,4	77
5,1	3,36	12,1	73,4	57

Tabla 1. Resultados de los 64 pacientes donde α HB = α -OH-butírico L-GPC = L- Linoleil-glicerofosfolina. Todos los resultados están expresados mg/mL con excepción del Quantose score que se encuentra expresado en una escala del 0-100.

Con base a lo obtenido se determinó resistencia a la insulina en 33 de los 64 pacientes en estudio. Cabe destacar que 5 del total de pacientes presentaron valores de glucosa anormales (≥ 100 mg/dL) pero no excedieron los 115 mg/dL.

8.1 Resistencia a la insulina y su relación con el tipo de esclerosis múltiple.

Los diferentes analitos que forman parte del Quantose score no fueron significativamente diferentes entre los pacientes con PPMS; RRMS o SPMS como se observa en la tabla 2.

Tipo de MS	Insulina mg /mL	α -HB mg/mL	L-GPC mg/mL	Ácido oleico mg/mL	Quantose
RRMS	7.06 \pm 0.63*	3.90 \pm 0.26	15.62 \pm 0.12	58.3 \pm 5.4	57.9 \pm 2.8
PPMS	6.84 \pm 0.55	4.53 \pm 0.55	17.55 \pm 1.48	60.1 \pm 7.9	58.6 \pm 5.4
SPMS	9.06 \pm 1.01	4.82 \pm 0.55	13.47 \pm 0.99 ^a	63.3 \pm 5.2	68.1 \pm 2.8
p _{RR-PP} ¶	NS	NS	NS	NS	NS
p _{SP-RR} ¶	NS	NS	NS	NS	0.0149

Tabla 2. Concentraciones plasmáticas de insulina, α -hidroxibutírico (α HB), L-linoleil-glicerofosfolina (L-GPC). Acido oleico y el valor de Quantose en pacientes con Esclerosis Múltiple de acuerdo al tipo de progresión en la enfermedad según sus siglas en ingles.

RRMS = relapsing-remitting multiple sclerosis; PPMS = primary progressive multiple sclerosis; SPMS = secondary progressive multiple sclerosis. * Los resultados son expresados en media aritmética \pm el error estándar de la media. ¶ Las medias fueron comparadas usando el método de t de Student para observaciones independientes.

Sin embargo 17 de 23 pacientes con la forma SPMS presentaron resistencia a la insulina, proporción significativamente diferente a la encontrada en los pacientes con RRMS y PPMS que fue de 16 en 41 pacientes; obteniéndose una Chi cuadrada=7.181 y una p=0.0007 (Figura 1).

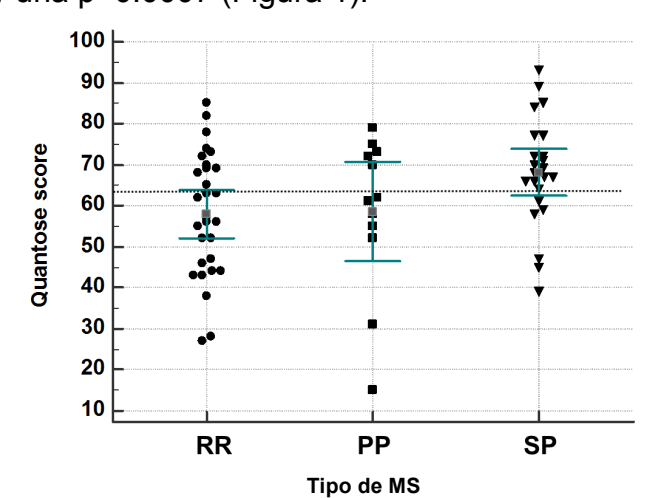


Figura 1. Valores individuales de Quantose score en pacientes con los diferentes tipos de esclerosis múltiple. La línea punteada que se encuentra de manera horizontal es el valor de corte para determinar resistencia a la insulina.

Al analizar otras diferencias entre los pacientes con SPSS, PPMS y RRMS se encontró que el tiempo transcurrido desde el diagnóstico fue significativamente mayor en pacientes con SPMS que en las otras dos variantes de la enfermedad (Tabla 3).

Tipo de MS	Tiempo desde el diagnóstico (años)	Diferencias, valor de p ¶		
RRMS	9.45 ± 1.58*	NS	0.004	0.0001
PPMS	6.20 ± 1.53			
SPMS	17.08 ± 2.01			

Tabla 3. Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de MS de acuerdo al tipo de progresión clínica. RRMS= relapsing-remitting multiple sclerosis; PPMS= primary progressive multiple sclerosis; SPMS= secondary progressive multiple sclerosis. * Los resultados son expresados en media aritmética ± el error estándar de la media. ¶ Las medias fueron comparadas usando el método de t de Student para observaciones independientes.

El análisis de la regresión lineal entre el valor de Quantose y el tiempo transcurrido desde el diagnóstico confirmó que existe una relación significativa entre éste último y la resistencia a la insulina (Figura 2). Se descartó también que la edad fuera un factor responsable de la correlación ya que la regresión entre la edad y la puntuación de cuantos no fue significativa obteniéndose una $r=0.06$ y una $p=0.621$. Además la proporción de pacientes con resistencia a la insulina no fue diferente en aquellos pacientes por debajo o por encima del valor medio (Chi cuadrada=0.2767, $p=0.598$).

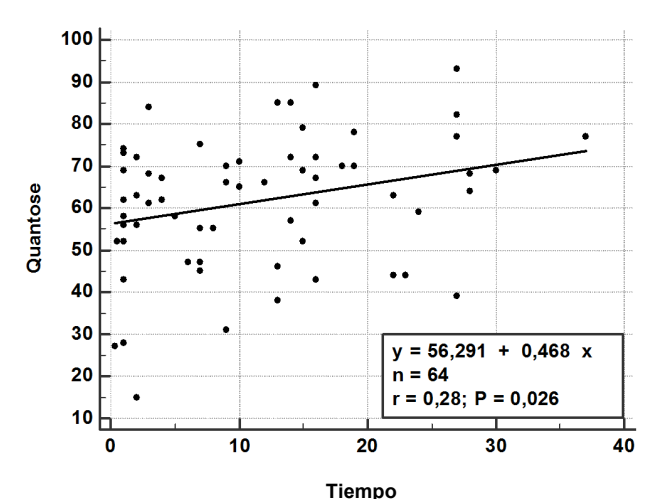


Figura 2. Correlación de Quantose score con el tiempo transcurrido desde el diagnóstico en 64 pacientes con MS.

8.2 Resistencia a la insulina y grado de discapacidad de esclerosis múltiple.

Al agrupar a los pacientes según el grado de discapacidad de la enfermedad (EDSS), se observó que la resistencia a la insulina era significativamente más frecuente en pacientes con valores de EDSS más altos (Tabla 4 y Figura 3).

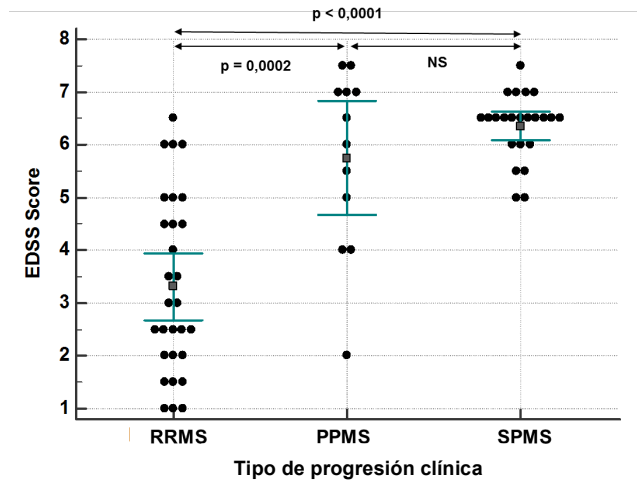


Figure 3. Valores individuales de EDSS score en pacientes con diferentes tipos de MS. Los valores de los pacientes con RRMS fueron significativamente menores que los que presentaron las formas PPMS y SPMS, la diferencia entre estos últimos no fue estadísticamente significativa.

	EDSS Score		
	≤4.5	5.0 – 6.0	≥6.5
Resistencia a la insulina	7	9	18
Sensibilidad a la insulina	18	7	5

Tabla 4. Asociación de resistencia a la insulina definida por Quantose score con EDSS score de 64 pacientes con MS. Coeficiente de contingencia = 0.401, Chi-cuadrada 12.236, $p = 0.0022$

El análisis de regresión lineal entre el valor de EDSS y el Quantose score también demuestra que existe correlación estadística (Figura 4).

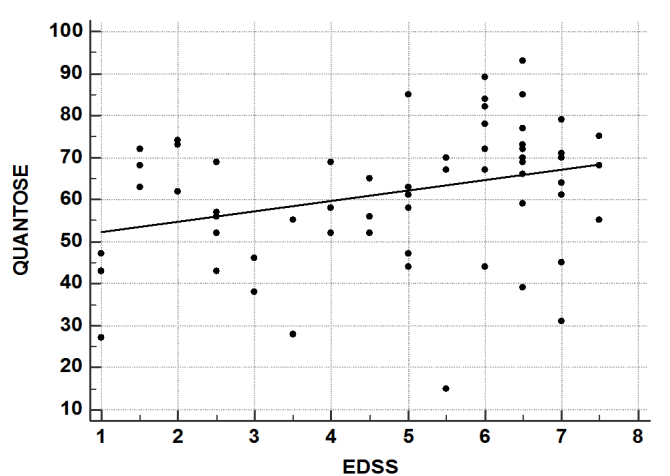


Figura 4. Regresión lineal de Quantose y EDSS score en los 64 pacientes con MS.

Sin embargo al analizar la regresión lineal de cada uno de los componentes del Quantose con el valor de EDSS se observó que ninguno de los analitos aislados, por sí mismos, se correlacionaba tan significativamente como lo hacia el Quantose score. En la Tabla 5 se muestra que la insulina y el ácido oleico no se correlacionaron significativamente con el EDSS y a pesar de que α -HB y LGPC mostraron una ligera correlación con el mismo, la determinación de los coeficientes y la regresión lineal de ambos fueron bajos.

	m	r	r ²	p
Quantose	2.47	0.311	0.097	0.0121
Insulina	0.29	0.148	0.022	NS
α-HB	0.26	0.256	0.066	0.039
LGPC	-0.76	0.273	0.075	0.027
Ac. oleico	1.85	0.134	0.018	NS

Tabla 5. Valores de regresión entre EDSS score y Quantose score, así como para los 4 elementos que se utilizan para la determinación de este último. α -HB = α -OH-butírico; L-GPC = L-linoleil-glicerofosfolina.

8.3 Asociación entre resistencia a la insulina y otros parámetros

En el estudio no se encontró relación entre resistencia a la insulina con parámetros como el sexo, la edad, el peso o el índice de masa corporal. Tampoco se observó correlación con el tratamiento previo al análisis, el país de residencia de los pacientes, el origen étnico u otras comorbilidades como alergias, hipertensión arterial, fibromialgia y enfermedad tiroidea.

8.4 Correlación de Quantose score e índice HOMA.

Se realizó además el análisis del índice HOMA en los 64 pacientes en estudio y se analizó la relación entre éste valor y el Quantose score como se puede observar en la figura 5. A pesar de la correlación significativa entre ambos parámetros, la determinación del coeficiente r² fue solamente de 0.4096.

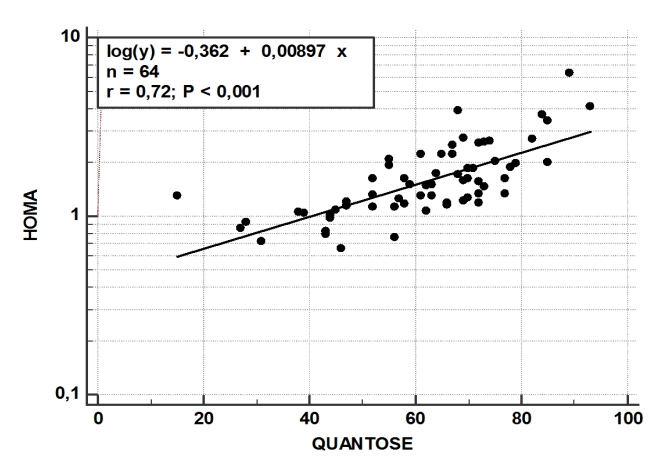


Figura 5. Análisis de Regresión entre Quantose score e índice HOMA de los 64 pacientes con MS.

El hallazgo confirma que el valor de Quantose presenta una mejor correlación para la determinación de resistencia a la insulina que el índice HOMA. En la tabla 6 se compara la tasa de detección de resistencia a la insulina según el Quantose score y el índice HOMA. Como se puede observar, mientras el Quantose score clasifica a 33 pacientes como resistentes a la insulina, el índice HOMA solo detecta 2. Por otro lado hubieron 3 pacientes que el índice HOMA clasificó como resistentes a la insulina y obtuvieron un valor de Quantose score normal. La correlación de los resultados obtenidos por los dos métodos fue prácticamente nula.

		Estado del metabolismo de la Insulina de acuerdo a Quantose	
		Sensible	Resistente*
Estado del metabolismo de la insulina de acuerdo a HOMA	Sensible	28	31
	Resistente¶	3	2

Tabla 6. Clasificación de los 64 pacientes con MS dependiendo de los valores obtenidos por Quantose score e índice HOMA. Coeficiente de contingencia = 0.0667, p de Fisher = 0.667252

*Quantose score \geq 63

¶ Índice HOMA \geq 3.

9. DISCUSIÓN

La resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la adiposidad fueron descritos anteriormente como comorbilidades de la esclerosis múltiple y sugirieron que podrían contribuir a la progresión y discapacidad de la misma, el análisis de resistencia a la insulina en el estudio fue realizado mediante el uso del índice HOMA, encontrándose en el 40% de los pacientes con esclerosis múltiple en comparación del grupo control que presentó resistencia a la insulina en un 21%.^{9,13,14} Como ya mencionamos con anterioridad el índice HOMA es una relación entre glucosa plasmática y niveles de insulina, ambos en ayunas, por lo tanto, presentará variaciones si uno de los analitos o ambos se encuentran alterados.

La resistencia a la insulina por Quantose se estima a partir de la medición de insulina, α -hidroxibutírico, ácido oleico y Linoleil-glicerofosocolina, estos tres últimos metabolitos se relacionan estrechamente con la eliminación de glucosa estimulada por la insulina. Se ha demostrado que el Quantose detecta pacientes con resistencia a la insulina en una etapa previa al proceso disglucémico antes de que se presente cualquier alteración en los niveles plasmáticos de glucosa o insulina.^{4,7}

Utilizando Quantose, se logró determinar resistencia a la insulina en el 51% de 64 pacientes con diferentes tipos de esclerosis múltiple así como diferentes grados de discapacidad. Se encontró una asociación significativa con la variante SPMS, así como con el grado de discapacidad establecido por el EDSS score y también con el tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta el momento del estudio. Si bien la relación positiva entre estas tres variables no permite aun determinar el papel patofisiológico que desempeña la resistencia a la insulina, se ha propuesto con anterioridad que ésta junto con la adiposidad y estrés oxidativo desempeñan un papel patogénico en la progresión de la esclerosis múltiple¹³, sin embargo, el estudio realizado demuestra que la resistencia a la insulina puede resultar de la evolución prolongada que caracteriza a los pacientes con SPMS. La asociación con valores de EDSS altos pueden reflejar también el tiempo de evolución más largo en estos pacientes. El hecho de que no se encontrara una asociación de resistencia a la insulina con el IMC o el peso corporal parece indicar que la obesidad debida a un estilo de vida sedentaria no es la causa subyacente de la resistencia a la insulina.¹

Independientemente que la resistencia a la insulina juegue o no un papel patogénico en el deterioro y la discapacidad del paciente con esclerosis múltiple, es claro que contribuye en las complicaciones. Varios estudios han demostrado que la resistencia a la insulina detectada por biomarcadores metabólicos evidencia el alto riesgo de la conversión de disglucemia a prediabetes y diabetes^{2,8,15,16,18}, por lo tanto la intervención oportuna con modificaciones en el estilo de vida o el uso de medicamentos podría revertir la progresión del proceso disglucémico.

Estudios epidemiológicos recientes sugieren que la ingesta excesiva de calorías y estrés metabólico pueden intervenir en la regulación inmunitaria y conducir a una degradación de la autotolerancia, por lo tanto, las enfermedades autoinmunes en general podrían estar relacionadas con la obesidad⁵, además, en el caso particular de la esclerosis múltiple, el factor genético que determina un incremento en el índice de masa corporal es un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad.¹¹

10. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos son los suficientemente robustos para proponer que se busque intencionadamente la presencia de resistencia a la insulina en pacientes con esclerosis múltiple, utilizando biomarcadores metabólicos y cuando sea apropiado intervenir para revertirla. Las complicaciones de la disglucemia, como la retinopatía, la neuropatía y la nefropatía, pueden aparecer al comienzo de la alteración metabólica¹² y contribuirán a un deterioro del sentido de bienestar de los pacientes con esclerosis múltiple. Si la prevención de las complicaciones de la disglucemia se implementa oportunamente en pacientes con esclerosis múltiple, se les ofrecerá una mejor calidad de vida una reducción considerable de los costos de su tratamiento.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Andersen, G.S., Thybo, T., Cederberg H2 Orešič, M., Esteller M3 Zorzano, A., Carr, B., Walker, M., Cobb, J., Clissmann, C., O'Gorman, D.J., Nolan, J.J.O., DEXLIFE Consor- tium, 2014. The DEXLIFE study methods: identifying novel candidate biomarkers that predict progression to type 2 diabetes in high risk individuals. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 106, 383–389.
2. Beger, R.D., Dunn, W., Schmidt, M.A., Gross, S.S., Kirwan, J.A., Cascante, M., Brennan, L., Wishart, D.S., Oresic, M., Hankemeier, T., Broadhurst, D.I., Lane, A.N., Suhre, K., Kas- tenmüller, G., Sumner, S.J., Thiele, I., Fiehn, O., Kaddurah- Daouk, R., for “Precision Medicine and Pharmacometabolomics Task Group”– Metabolomics Society Initiative, 2016. Metabolomics enables precision medicine: “a white paper, community perspective”. *Metabolomics* 12, 149–163.
3. Buijsse, B., Simmons, R.K., Griffin, S.J., Schulze, M.B., 2011. Risk assessment tools for identifying individuals at risk of developing type 2 diabetes. *Epidemiol. Rev.* 33, 46–62.
4. Cobb, J., Gall, W., Adam, K.P., Nakhle, P., Button, E., Hathorn, J., Lawton, K., Milburn, M.V., Prichon, R., Mitchell, M., Natali, A., Ferrarini, E., 2013. A novel fasting blood test for insulin resistance and prediabetes. *J. Diabetes Sci. Technol.* 7, 100–110.
5. De Rosa, V., La Cava, A., Matarese, G., 2017. Metabolic pressure and the breach of immunological self tolerance. *Nat. Immunol.* 18, 1190–1196.
6. Ferrannini, E., Natali, A., Camastra, S., Nannipieri, M., Mari, A., Adam, K.P., Milburn, M.V., Kastenmüller, G., Adamski, J., Tuomi, T., Lyssenko, V., Groop, L., Gall, W.E., 2013. Early metabolic markers of the development of dysglycemia and type 2 diabetes and their physiological significance. *Diabetes* 62, 1730–1737.
7. Gall, W.E., Beebe, K., Lawton, K.A., Adam, K.P., Mitchell, M.W., Nakhle, P.J., Ryals, J.A., Milburn, M.V., Nannipieri, M., Camastra, S., Natali, A., Ferrarini, E., for the RISC Study Group, 2010. α -Hydroxybutyrate is an early biomarker of insulin resistance and glucose intolerance in a nondiabetic population. *PLoS One* 5, e10883.
8. DREAM (Diabetes Reduction Assessment with ramipril and rosiglitazone Medication) Trial Investigators, Gerstein, H.C., Yusuf, S., Bosch, J., Pogue, J., Sheridan, P., Dinccag, N., Hanefeld, M., Hoogwerf, B., Laakso, M., Mohan, V., Shaw, J., Zinman, B., Holman, R.R., 2006. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomized controlled trial. *Lancet* 368, 1096–1105.
9. Kallaur, A.P., Oliveira, S.R., Simão, A.N., de Almeida, E.R., Morimoto, H.K.,

Alfieri, D.F., Pereira, W.L., Borelli, S.D., Kaimen-Maciel, D.R., Maes, M., Reiche, E.M.J., 2014. Tumor necrosis factor beta Ncol polymorphism is associated with inflammatory and metabolic markers in multiple sclerosis patients. *Neurol. Sci.* 15 (346), 156–163.

10. Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., Turner, R.C., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28, 412–419.

11. Mokry, L.E., Ross, S., Timpson, N.J., Sawcer, S., Davey-Smith, G., Richards, J.B., 2016. Obesity and multiple sclerosis: a mendelian randomization study. *PLoS Med.* 13, e1002053.

12. Nichols, G.A., Arondekar, B., Herman, W.H., 2008. Complications of dysglycemia and medical costs associated with nondiabetic hyperglycemia. *Am. J. Manag. Care* 14, 791–798.

13. Oliveira, S.R., Simão, A.N., Kallaur, A.P., de Almeida, E.R., Morimoto, H.K., Lopes, J., Dichi, I., Kaimen-Maciel, D.R., Reiche, E.M., 2014. Disability in patients with multiple sclerosis: influence of insulin resistance, adiposity, and oxidative stress. *Nutrition* 30, 268–273.

14. Penesova, A., Vlcek, M., Imrich, R., Vernerova, L., Marko, A., Meskova, M., Grunnerova, L., Turcani, P., Jezova, D., Kollar, B., 2015. Hyperinsulinemia in newly diagnosed patients with multiple sclerosis. *Metab. Brain Dis.* 30, 895–901.

15. Portero McLellan, K.C., Wyne, K., Trejo Villagomez, E., Hsueh, W.A., 2014. Therapeutic interventions to reduce the risk of progression from prediabetes to type 2 diabetes mellitus. *Ther. Clin. Risk Manag.* 10, 173–188.

16. Rattray, N.J.W., Deziel, N.C., Wallach, J.D., Khan, S.A., Vasiliou, V., Ioannidis, J.P.A., Johnson, C.H., 2018. Beyond genomics: understanding exposotypes through metabolomics. *Hum. Genomics* 12, 4–15.

17. Ruíz-Argüelles, G.J., León-Peña, A.A., León-González, M., Nuñez-Cortes, A.K., Olivares-Gazca, J.C., Murrieta-Álvarez, I., Vargas-Espinosa, J., Medina-Ceballos, E., Cantero-Fortiz, Y., Ruíz-Argüelles, A., Ruíz-Delgado, M.A., Ruíz-Delgado, R.J., Ruíz-Reyes, G., Priesca-Marín, M., Torres-Priego, M.S., Blumenkron-Marroquín, D., Ruiz-Delgado, G.J., 2017. A feasibility study of the full outpatient conduction of hematopoietic transplant in persons with multiple sclerosis employing autologous non-cryopreserved peripheral blood stem cells. *Acta Haematol.* 137, 214–219.

18. Sas, K.M., Karnovsky, A., Mchailidis, G., Pennathur, S., 2015. Metabiolomics and diabetes: analytical and computational approaches. *Diabetes* 64, 718–732.

19. Sicras-Mainar, A., Ruíz-Beato, E., Navarro-Artieda, R., Maurino, J., 2017.

Comorbidity and metabolic syndrome in patients with multiple sclerosis from Asturias and Catalonia, Spain. *BMC Neurol.* 17, 134.

20. Tripathy, D., Cobb, J.E., Gall, W., Adam, K.P., George, T., Schwenke, D.C., Banerji, M.A., Bray, G.A., Buchanan, T.A., Clement, S.C., Henry, R.R., Kitabchi, A.E., Mudaliar, S., Ratner, R.E., Stentz, F.B., Reaven, P.D., Musi, N., Ferrannini, E., DeFronzo, R.A., 2015. A novel insulin resistance index to monitor changes in insulin sensitivity and glucose tolerance: the act now study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100, 1855–1862.

21. Kasper Dennis L., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry, Fauci Anthony S., Longo Dan L., Loscalzo Joseph.:Harrison. *Principios de Medicina Interna. Volumen 2.* 19ª edición. Editorial Mc Graw Hill.2016.Capitulo 458. Páginas 2661-2666.

22. Kasper Dennis L., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry, Fauci Anthony S., Longo Dan L., Loscalzo Joseph.:Harrison. *Manual de Medicina.* 19ª edición. Editorial Mc Graw Hill.2016.Capitulo 190. Páginas 1012-1016.

23. Polman CH *et al.*: Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the “McDonald Criteria”. *Ann Neurol* 69:292, 2011

24. Kasper Dennis L., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry, Fauci Anthony S., Longo Dan L., Loscalzo Joseph.:Harrison. *Manual de Medicina.* 19ª edición. Editorial Mc Graw Hill.2016.Capitulo 118. Páginas 656-658.

25. Kasper Dennis L., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry, Fauci Anthony S., Longo Dan L., Loscalzo Joseph.:Harrison. *Principios de Medicina Interna. Volumen 2.* 19ª edición. Editorial Mc Graw Hill.2016.Capitulo 422. Páginas 2449-2452.

26. NHANES 2003-2006. NHANES, *National Health and Nutrition Examination Survey; a partir de los datos de ES Ford et al.: J Diabetes* 2:1753, 2010.

27. Kasper Dennis L., Hauser Stephen L., Jameson J. Larry, Fauci Anthony S., Longo Dan L., Loscalzo Joseph.:Harrison. *Principios de Medicina Interna. Volumen 2.* 19ª edición. Editorial Mc Graw Hill.2016.Capitulo 417. Páginas 2402-2406.

28. WatsonGS, CraftS(2006) Insulin resistance, inflammation, and cognition in Alzheimer’s Disease: lessons for multiple sclerosis.*JNeurol Sci* 245:21–33.

29. <https://www.metabolon.com/who-we-serve/clinical-consumer-applications/quantose-ir>

30. QUANTOSE IR. Technical Information Guide. Metabolon Inc.

31. Guía técnica y manual de operación del sistema Architect Abbott.

32. <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>

33. <https://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1066/1063>
34. Hauschild, J. P., Wapelhorst, E. & Müller, J. (2007) Mass spectra measured by a fully integrated MEMS mass spectrometer. *International Journal of Mass Spectrometry*. 264: 53-60.
35. Wallace TM, Levy J, Matthews D. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004 ;27(6):1487-95.
36. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodríguez-Alvarez MX, Gude F, García F, De Francisco A, et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2013;13:47.