



CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO  
DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA MOLECULAR

“CORRELACIÓN DEL ÍNDICE HOMA DE RESISTENCIA A LA INSULINA CON  
LOS NIVELES DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES Y CITOCINAS EN SUJETOS  
CON GLUCOSA EN AYUNO NORMAL Y ELEVADA”

T E S I S  
QUE PRESENTA

Médico Internista  
César Iván Elizalde Barrera

Para Obtener el grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS

EN LA ESPECIALIDAD DE  
BIOMEDICINA MOLECULAR

Directores de la Tesis  
DRA MARÍA TERESA ESTRADA GARCÍA  
DR ALBERTO FRANCISCO RUBIO GUERRA

México D.F.

Agosto del 20151



## ÍNDICE

a. Lista de tablas.....	6
b. Lista de Figuras.....	7
c. Resumen.....	10
d. Abstract.....	11
1. Introducción.....	12
1.1 Definición y Panorama Epidemiológico.....	12
1.2 Diagnóstico.....	13
1.3 Grupos de Riesgo para desarrollar Diabetes Mellitus T2.....	13
1.4 La Diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad.....	14
1.5 Fisiología de la Homeostasis de la Glucosa.....	15
1.6 Factores implicados en el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo 2.....	17
1.6.1 Resistencia a la insulina.....	17
1.6.1.1 Ácidos grasos libres.....	18
1.6.1.2 Citocinas.....	19
1.6.2 Disfunción de la célula beta.....	21
1.6.2.1 Glucolipototoxicidad.....	22
1.6.2.2 Estrés del retículo endoplásmico.....	22
1.7 El índice Homeostasis Model Assessment como método para evaluar la resistencia a la insulina y la función de la célula beta.....	22
2. Justificación.....	24
3. Hipótesis.....	25
4. Objetivos.....	26
4.1 Objetivo general.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26
5. Material y métodos.....	28
5.1 Población.....	28
5.2 Diseño del Estudio.....	28
5.3 Criterios de inclusión.....	28
5.3.1 Casos.....	28
5.3.2 Controles.....	28
5.4 Criterios de exclusión.....	28
5.5 Aspectos éticos.....	29

5.6 Selección de sujetos .....	29
5.6.1 Entrevista inicial.....	29
5.7 Toma de muestra de sangre .....	29
5.8 Determinación de las concentraciones de insulina, interleucina 6 y ácidos grasos libres .....	30
5.8.1 Insulina.....	30
5.8.2 Interleucina 6.....	30
5.8.3 Ácidos grasos libres.....	31
5.9 Cálculo de los índices de HOMA.....	31
5.10 Análisis estadístico .....	32
6. Resultados.....	33
6.1 Población de estudio.....	33
6.2 Correlación entre las variables antropométricas y los índices HOMA e insulina.....	34
6.3 Comparación de los niveles de insulina y los índices de HOMA entre los casos y los controles.....	38
6.4 Comparación de los índices HOMA, insulina entre los casos y controles estratificados por el IMC.....	40
6.4.1 Sujetos con peso normal.....	43
6.4.2 Sujetos con sobrepeso.....	45
6.4.3 Sujetos con obesidad.....	47
6.5 Análisis de los índices de HOMA e insulina mediante las Curvas ROC.....	49
6.6 Evaluación de la interacción entre HOMA_IR y HOMA_B.....	51
6.7 Propuesta nuevo índice para evaluar la interacción entre la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta.....	52
6.7.1 Curvas ROC para el índice propuesto.....	53
6.8. Análisis de ácidos grasos libres.....	54
6.8.1 Comparación de los AGL entre casos y controles .....	55
estratificándolos por su índice de masa corporal.....	56
6.8.2 Correlación entre las variables antropométricas y los ácidos grasos libres.....	56
6.8.3 Correlación entre las concentraciones de insulina, los índices	

HOMA y los ácidos grasos libres.....	58
6.8.4 Correlación entre las concentraciones de triglicéridos y las concentraciones de ácidos grasos libres.....	60
6.9. Análisis de Interleucina 6.....	60
6.9.1 Correlaciones entre las concentraciones de Interleucina 6 y las variables antropométricas índice de masa corporal y circunferencia de cintura.....	61
6.9.2 Correlaciones entre las concentraciones de Interleucina 6 y las concentraciones de insulina y los índices de HOMA.....	63
7. Discusión.....	65
8. Conclusiones y perspectivas.....	69
9. Bibliografía.....	71

## **LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. Tabla 1 Características de la población de estudio

Tabla 2. Tabla 2 Coeficientes de correlación entre las variables antropométricas Índice de masa corporal (IMC), Circunferencia de cintura y los índices de HOMA y las concentraciones de insulina

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de Diabetes en México

Figura 2. vía de señalización de la insulina

Figura 3. Fosforilación en residuos de serina/treonina de las proteínas IRS como mecanismo regulador de la acción de la insulina

Figura 4. Mecanismos inflamatorios implicados en la resistencia a la insulina

Figura 5. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y las Concentraciones de Insulina

Figura 6. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y el índice HOMA\_IR

Figura 7. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y el índice HOMA\_B

Figura 8. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y las concentraciones de Insulina

Figura 9. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y índice HOMA\_IR

Figura 10. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y índice HOMA\_B

Figura 11. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles

Figura 12. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos y los controles

Figura 13. Comparación del índice de HOMA\_B entre los casos y los controles

Figura 14. Comparación de las concentraciones de insulina entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 15. Comparación del índice de HOMA\_IR entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 16. Comparación del índice de HOMA\_B entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 17. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 18. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 19. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal

Figura 20. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con peso normal

- Figura 21. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos y los controles con peso normal
- Figura 22. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con peso normal
- Figura 23. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con sobrepeso
- Figura 24. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos y los controles con sobrepeso
- Figura 25. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con sobrepeso
- Figura 26. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con obesidad
- Figura 27. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos y los controles con obesidad
- Figura 28. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con Obesidad
- Figura 29. Curva ROC para la discriminación entre casos y controles para la insulina y el índice HOMA\_IR
- Figura 31. Correlaciones entre el HOMA\_IR y el HOMA\_B para los casos y los controles
- Figura 32. Comparación del índice HOMA<sub>IR/B</sub> entre los casos y los controles, estratificados por índice de Masa Corporal
- Figura 33. Curva ROC para el índice HOMA<sub>IR/B</sub> comparado con las concentraciones de insulina y el índice HOMA\_IR
- Figura 34. Comparación de los ácidos grasos libres entre casos y controles
- Figura 35. Comparación de los ácidos grasos libres entre casos y controles estratificados por el Índice de Masa Corporal
- Figura 36. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y las concentraciones de Ácidos Grasos Libres
- Figura 37. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y las concentraciones de Ácidos Grasos Libres
- Figura 38. Correlación entre las concentraciones de Ácidos Grasos Libres y de Insulina

Figura 39. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y el HOMA\_IR

Figura 40. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y el HOMA\_B

Figura 41. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y de Triglicéridos

Figura 42. Comparación de las concentraciones de Interleucina 6 entre los casos y los controles

Figura 43. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice de Masa Corporal

Figura 44. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y la circunferencia de cintura

Figura 45. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y las de insulina

Figura 46. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice HOMA\_IR

Figura 47. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice HOMA\_B

La diabetes tipo 2 (DMT2) es una de las enfermedades con mayor impacto en salud pública en el mundo y en México, no solo por el número de pacientes que se ha incrementado de manera constante en los últimos 15 años, pero también por los costos de su tratamiento, por las patologías que acompañan a esta enfermedad (pie diabético, retinopatía, insuficiencia renal). Actualmente se estima que hay 6.4 millones de personas con diabetes en México, con un gasto anual por esta enfermedad de 3,430 millones de dólares. Por lo que se ha convertido en una prioridad para los sistemas de salud el identificar a los sujetos en riesgo de desarrollar DMT2 para retrasar su presentación o evitarla. Los sujetos que presentan glucosa alterada en ayuno ( $GAA > 100 < 126$  mg/dL) así como los obesos (índice de masa corporal,  $IMC > 30$ ), son dos grupos poblacionales claramente identificados como de riesgo para desarrollar DMT2. Entre los factores asociados con la patogenia de DMT2 se encuentran dos condiciones: la resistencia a la insulina (RI), que se define como una respuesta reducida de la esperada a las acciones de la insulina en los tejidos sensibles a esta hormona, y la funcionalidad de la célula beta pancreática (FCB), las cuales están interrelacionadas. Un método no invasivo y accesible para determinar estos parámetros es el índice de HOMA (Homeostasis Model Assessment) IR (resistencia a la insulina) y HOMA\_B (funcionalidad de célula beta), los cuales se calculan con base en las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno, mediante el software proporcionado por la Universidad de Oxford. La RI en algunas poblaciones también se han correlacionado con otros parámetros como son las concentraciones séricas elevadas de ácidos grasos libres ( $AGL > 0.6$  pg/ml) e interleucina 6 ( $IL6 > 2.5$  pg/ml). Objetivo. Determinar y comparar las concentraciones de insulina, de AGL y de IL6, así como la RI y FCB utilizando los índices de HOMA\_IR y \_B entre dos grupos de sujetos, uno con GAA y un grupo control con glucosa normal, realizar las comparaciones de estos parámetros por las categorías del IMC, peso normal ( $< 25$ ), sobrepeso ( $25-30$ ) y obesidad. Resultados. Las concentraciones de insulina y el HOMA\_IR fueron significativamente mayores en los casos comparados con los controles, mientras que el HOMA\_B fue significativamente menor en los casos. Al realizar el análisis por las categorías del IMC solo se observaron diferencias significativas en HOMA\_B en los sujetos con obesidad. Al analizar la capacidad del HOMA\_IR y la concentración de insulina para identificar a los sujetos con GAA mediante curvas ROC se obtuvieron especificidades y sensibilidades  $< 65\%$ , estadísticamente significativas, pero con limitada utilidad clínica, ya que deben ser  $\geq 80\%$ . Con el fin de incrementar la sensibilidad y especificidad se desarrolló un nuevo índice que se calcula mediante la siguiente fórmula:  $HOMA\_IR/HOMA\_B \times 100$  que denominamos  $HOMA_{IR/B}$ , el análisis utilizando las curvas ROC mostró una sensibilidad y especificidad del índice mayores del  $80\%$  con un punto de corte de 1.35. No observamos una correlación entre RI y los AGL y la correlación con la IL6 fue intermedia. Conclusión. El índice desarrollado  $HOMA_{IR/B}$  mostró ser una excelente herramienta para identificar a los sujetos con GAA que están en riesgo de desarrollar DMT2, independientemente de su IMC. Nuestros resultados en su conjunto muestran la importancia de evaluar la RI y FCB en la población mexicana, utilizando un método no invasivo, como el índice  $HOMA_{IR/B}$ , que solo requiere de la determinación de las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno para identificar sujetos en riesgo de desarrollar DMT2.

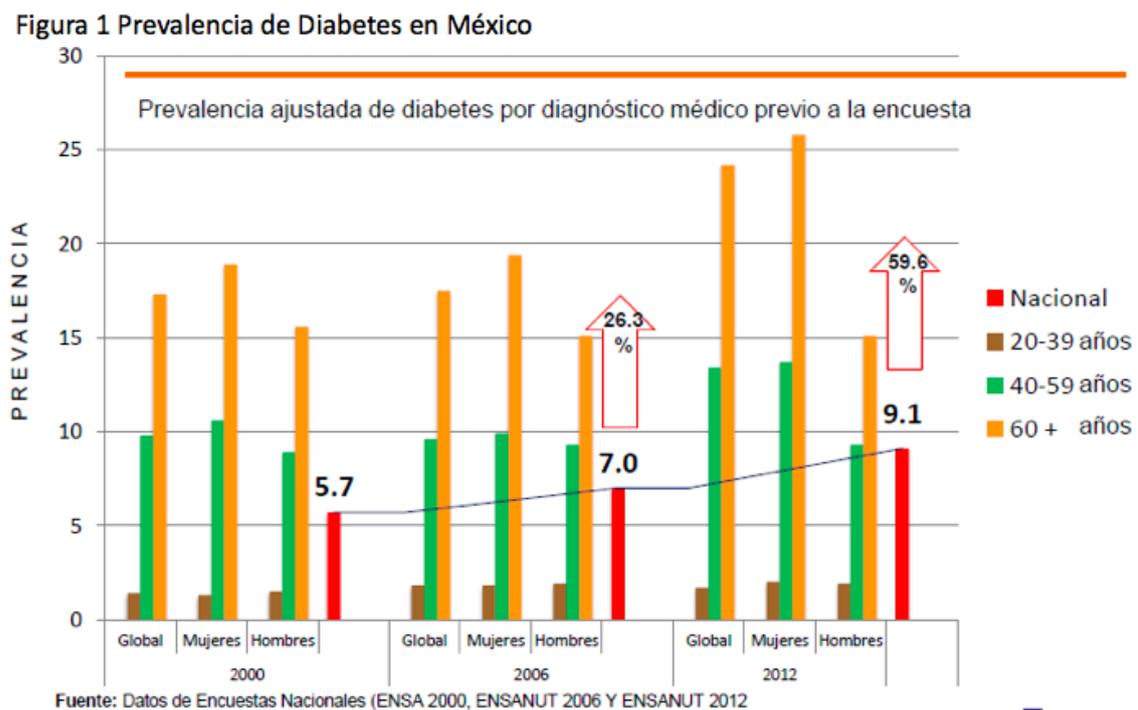
Type 2 diabetes (T2DM) is one of the diseases with a major public health impact worldwide and in Mexico, not only because the number of patients had increased constantly in the last 15 years, but also due the cost of treatment, of all the pathologies associated with this illness (diabetic foot diabetic retinopathy, renal insufficiency, etc.). Nowadays, it is estimated that 6.4 million of subjects are diabetic in Mexico and the annual expense on this disease is of 3,430 million dollars. Therefore, it has become a priority for the health systems the identification of subjects in risk of developing this disease in order to delay its presentation or avoided. The subjects that have impaired fasting plasma glucose levels (IFG  $>100 < 126$  mg/dL) as well as obese persons with a body mass index (BMI)  $> 30$ , are two population groups that have been clearly identified at risk to develop T2DM. Among the factors associated with T2DM pathogenesis there are two condition: insulin resistance (IR), which is define as a reduce response to the expected insulin effects on the sensitive tissues to this hormone and the beta pancreatic cell function (BCF), that are interrelated. A none invasive and accessible method to determine these parameters is the HOMA indexes (Homeostasis Model Assessment)  $\_IR$  (insulin resistance) and  $\_B$  (beta pancreatic cell function), that are calculated based on fasting glucose and insulin concentrations, by a software provided by Oxford University. RI in some populations also had correlated with other parameters as high concentrations of free fatty acids (FFA $>0.6$  pg/ml) and interleukin 6 (IL6 $>2.5$  pg/ml). Objective. To determine and compare insulin, FFA and IL6 concentrations, as well IR and BCF using the HOMA $\_RI$  and  $\_B$  indexes among two group of subjects, one with IFG a control group with normal glucose, also we compared these parameters by BMC, normal weight ( $<25$ ), overweight (25-30) and obese. Results. Insulin concentrations and HOMA $\_IR$  were significantly higher in cases compered with controls, while HOMA $\_B$  was significantly lower in cases. When the analysis was done by BMI categories significant differences were only observed in HOMA $\_B$  among obese subjects. When the capacity of HOMA $\_IR$  and insulin concentrations to identify IFG subjects was analysed by ROC curves the specificity and sensitivity were  $< 65\%$  and was significant statistically, but with limit clinic use since they should be  $\geq 80\%$ . Thus in order to increase the specificity and sensitivity a new index was developed base on the following formula:  $HOMA\_IR/HOMA\_B \times 100$  that we named HOMA $\_{IR/B}$  index, and the ROC curves analysis using this index revealed a specificity and sensitivity higher than 80%, with a brake point of 1.35. We did not observed a correlation between IR and FFA and the correlation of IR with IL6 was intermediary. Conclusions. The new developed index HOMA $\_{IR/B}$  had shown to be an excellent tool to identify IFG and controls subjects that are at risk of developing T2DM independently of their BMC. Our results together have shown the importance of evaluating the IR as well as the BCF in the Mexicana population using a non invasive method as the HOMA $\_{IR/B}$  index, that only requires to estimate the fasting glucose and insulin concentrations to identify subjects in risk of developing T2DM .

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Definición y Panorama Epidemiológico

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad crónico-degenerativa caracterizada principalmente por la presencia de niveles elevados de glucosa en sangre, además frecuentemente se asocia con alteraciones en los niveles de lípidos sanguíneos: Niveles de triglicéridos (TGC) altos, colesterol de alta densidad (C-HDL) bajo (Cefalu William T y cols, 2008). Desde hace 3 décadas la prevalencia de la DMT2 se ha incrementado de manera constante en todo el mundo y es más acentuado en vías de desarrollo. Para el 2011 se estimó que aproximadamente 366 millones de personas en el todo el mundo presentaban DMT2, con base en estos datos se considera que para el 2030 el número se incrementará a 552 millones, el 80% de estos pacientes viven en países en vías de desarrollo (Olokoba Abdulfatai B y cols, 2012). En México se ha documentado un incremento constante en la prevalencia de la DMT2 desde 2000 hasta la actualidad, con una prevalencia en el 2012 de 9.3%.

Figura 1



Los pacientes con DMT2 además de presentar complicaciones microvasculares propias de la enfermedad como la nefropatía, la retinopatía y la neuropatía diabéticas (cuales a su vez producen ceguera, insuficiencia renal y amputaciones no traumáticas), tienen mayor riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares como infarto agudo al miocardio, enfermedad cerebral vascular y enfermedad arterial periférica. Así es que la DMT2 tiene una alta tasa de mortalidad provocada por las complicaciones de la enfermedad, por lo que se encuentra entre las primeras causas de muerte a nivel mundial. Por otra parte la DMT2 tiene un alto impacto en los costos generados por la atención de la enfermedad y sus complicaciones. **(Nathan David M y cols, 2013)**

## **1.2 Diagnóstico**

El diagnóstico de DMT2 se realiza mediante la medición de glucosa en sangre, ya sea en ayuno o 2 horas posterior a una carga de glucosa oral de 75g. En el primer caso el diagnóstico de DMT2 se realiza cuando los niveles de glucosa séricos son mayores a 125mg/dl y en el segundo cuando son superiores a 199mg/dl. **(Inzucchi Silvio E y cols, 2015) (Leiva E y cols, 2014)**

## **1.3 Grupos de Riesgo para desarrollar Diabetes Mellitus T2**

Se han identificado sujetos con alto riesgo para desarrollar DMT2 con base en los niveles de glucosa sanguínea, los cuales presentan la glucosa sérica por arriba de los valores normales de 100mg/dl, pero menores a 125mg/dl por lo que no cumplen con el criterio para el diagnóstico de DMT2. Estas personas con alto riesgo de desarrollar DMT2 se clasifican en dos grupos que incluyen: 1) las que presentan glucosa alterada en ayuno (GAA), la cual se define como niveles de glucosa sérica en ayuno entre 100 y 125 mg/dl y 2) las que presentan intolerancia a la glucosa, en la cual los niveles de glucosa sérica posterior a una carga oral de glucosa de 75g se encuentran entre 140 y 199mg/dl. **(Paulweber B y cols, 2010)**. Se ha reportado que estas personas

tienen de 3 a 5 veces mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus y datos similares han sido documentados para la población mexicana. Estos sujetos se denominan pre-diabéticos, debido al alto porcentaje que progresa a diabetes, aunque el tiempo de progresión puede variar entre distintas poblaciones (**Admiraal**). Se ha documentado que el número de prediabéticos se ha incrementado en todo el mundo; En México se ha reportado una prevalencia de 3.1% (**Ferrannini E**). Este grupo representa una fase temprana en la evolución de la diabetes y por lo tanto su estudio y caracterización son de gran interés para comprender la fisiopatología de la enfermedad, además de que su tratamiento y manejo podrían prevenir o al menos retrasar el desarrollo de la enfermedad.

#### **1.4 La Diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad**

La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar DMT2 (**Lumeng Carey y cols, 2011**), de hecho entre el 70 al 80% de la personas que desarrollan la enfermedad son obesos. Sin embargo, actualmente se ha reportado un incremento en la incidencia de DMT2 cada vez mayor entre personas con sobrepeso e incluso con peso normal. El desarrollo de la DMT2 en personas que no presentan obesidad podría representar una mayor susceptibilidad de ciertas poblaciones para la enfermedad, así que en regiones como Asia y Latinoamérica se ha encontrado una mayor proporción de sujetos con DMT2 sin obesidad comparado con otras regiones del mundo.

#### **1.5 Fisiología de la Homeostasis de la Glucosa**

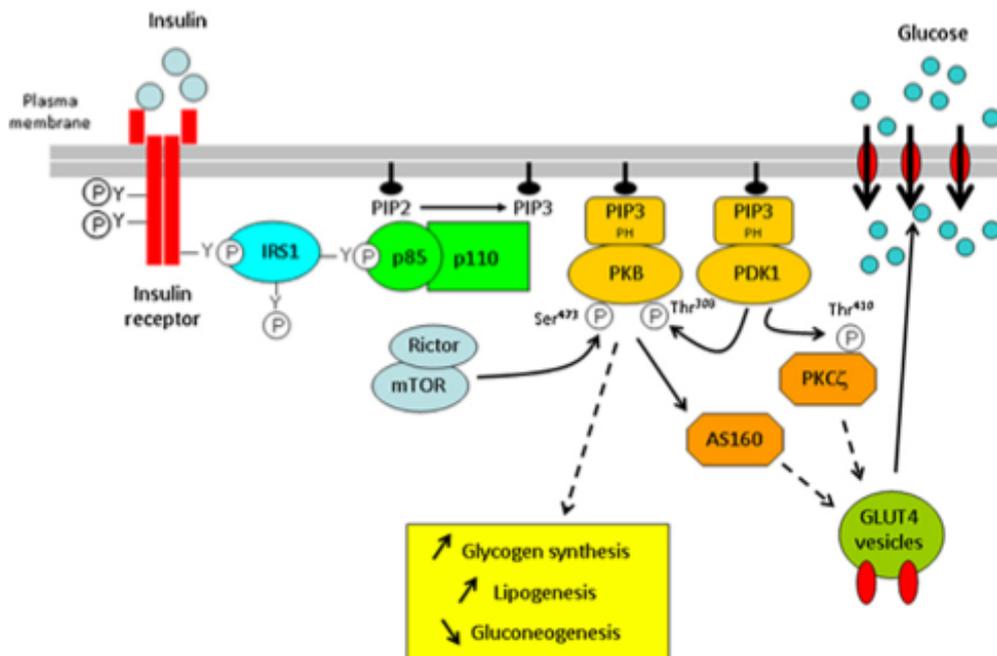
La insulina, es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, producida, secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas y cuya función principal es la regulación de la homeostasis de la glucosa sobre todo en el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. (**Dimitriadis George y cols, 2011**)

La insulina que se produce en el páncreas se secreta bajo la influencia de varios estímulos, siendo el principal estímulo el incremento en las concentraciones de la glucosa plasmática, posterior a la ingestión de alimentos. Una vez que se elevan los niveles de glucosa sanguíneos, ésta entra a la célula beta pancreática a través de los transportadores de glucosa tipo 2 (GLUT2) presentes en el páncreas. La glucosa es entonces metabolizada llevando a la síntesis de ATP e incrementando la razón ATP/ADP, lo cual conlleva al cierre de los canales de potasio dependientes de ATP, despolarizando la membrana celular y a la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje, lo cual a su vez permite la entrada de calcio al interior de la célula, este incremento en la concentración de calcio intracelular lleva a la secreción de insulina por parte de la célula beta. Existe además una secreción basal de insulina durante el ayuno, la función de esta secreción es mantener las concentraciones de glucosa sérica dentro de límites muy estrechos (aproximadamente 70-100mg/dl), principalmente a través de la inhibición de la producción hepática de glucosa. **(Rhodes C. J y cols, 2002) (Seino Susumu y cols, 2011)**

Como la mayoría de las hormonas la insulina ejerce sus acciones intracelulares mediante la unión a su receptor localizado en la membrana celular de los tejidos blanco **(White Morris F, 2003) ((Rosen Ora M, 2013)**. El receptor de la insulina (IR) es un tetrámero constituido por dos subunidades alfa y dos subunidades beta. Una vez que la insulina se une a su receptor induce la activación de su función tirosina-cinasa lo cual conlleva la autofosforilación del receptor en residuos de tirosina, esto a su vez produce cambios conformacionales que exponen sitios de unión para sus moléculas sustrato. En particular el metabolismo de la glucosa esta regulado por las moléculas sustrato del receptor de insulina (IRS), de las 5 isoformas existentes ISR1 y 2 son las relacionadas con el transporte de glucosa al interior de la célula. Una vez que IRS se une al IR, está es fosforilada en residuos de tirosina, iniciando los eventos de señalización río abajo que finalmente conlleva a la translocación de los transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT4) del citosol a la membrana

plasmática, este evento permite la entrada de glucosa al interior de la célula. (White M.F, 1997) Figura 2

Figura 2 vía de señalización de la insulina

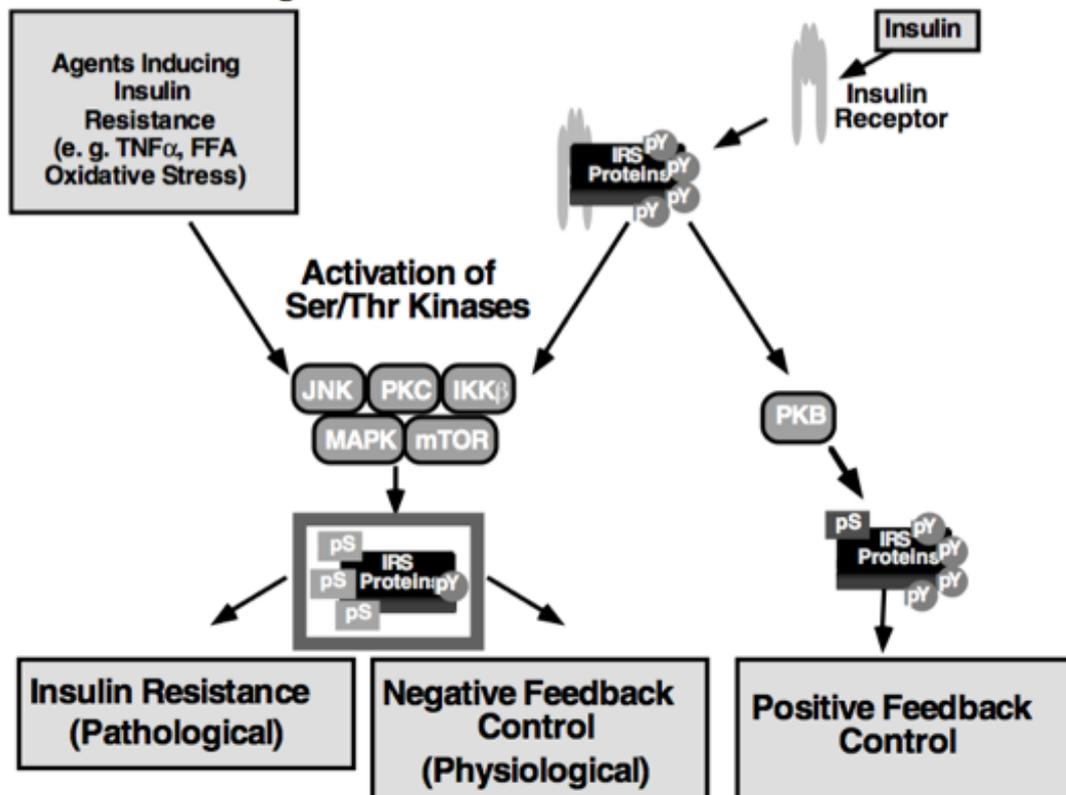


S. Turban, E. Hajduch/FEBS Letters 585 (2011) 269–274

Se han dilucidado los mecanismos de regulación intracelulares de la actividad de la insulina, entre estos se encuentran la desfosforilación de los residuos de tirosina del IR y de las moléculas IRS por medio de fosfatasa intracelulares, inactivando a éstas moléculas. Otro mecanismo de regulación de IRS es la fosforilación de los residuos de serina-treonina (S/T) en las moléculas IRS, a cargo de cinasas de serina-treonina intracelulares. Esta fosforilación de los residuos S/T induce la disociación del complejo IR/IRS y marca a las proteínas IRS para su degradación (Copp K. D y cols, 2012), si bien este mecanismo tiene la finalidad del control fisiológico de la señalización de la insulina regulando su actividad, se ha documentado en ciertas condiciones como el embarazo, la sepsis y la obesidad un incremento en la actividad las cinasas S/T, lo cual resulta en una inadecuada respuesta a la insulina (Zick Y y cols, 2003). Se han identificado diversas cinasas S/T que tienen como sustrato a las moléculas IRS y que pueden activarse por diversos factores asociados con la

DMT2 de manera patológica, entre estos factores se encuentra la obesidad (**Boura-Halfon Sigalit y cols, 2009**). El incremento en la actividad de estas cinasas S/T se ha propuesto como uno de los mecanismos responsables de la resistencia a la insulina. Figura 3

**Figura 3 Fosforilación en residuos de serina/treonina de las proteínas IRS como mecanismo regulador de la acción de la insulina**



*International Journal of Obesity (2003) 27, S56-S60.*

## 1.6 Factores implicados en el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo 2

La etiología de la DMT2 no se encuentra bien establecida, sin embargo se acepta que la resistencia a la insulina y la disfunción de la célula beta pancreática son los factores que intervienen en el desarrollo de la enfermedad. (**Kasuga Masato y cols, 2006**)

### 1.6.1 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina fue una de las primeras características de los pacientes con DMT2 que se describió, la cual se caracteriza por una menor

respuesta de los tejidos blanco a la acción de la insulina, observándose una disminución en el consumo de glucosa mediado por la insulina en el músculo (**Bloomgarden Zachary T y cols, 2007**). Actualmente se considera que dos vías por las que se induce la resistencia a la insulina son la mediada por los ácidos grasos libres (AGL) y la inducida por inflamación crónica subclínica.

#### **1.6.1.1 Ácidos grasos libres**

Durante el ayuno los AGL presentes en la sangre provienen de dos fuentes: 1) la hidrólisis por la lipasa endotelial de los TGC circulantes en sangre y 2) la hidrólisis de los TGC almacenados en los adipocitos. Después de la ingesta de alimentos, las concentraciones de AGL se incrementan por la absorción de estos por el intestino, así que la liberación de AGL por el adipocito y la actividad de la lipasa endotelial es inhibida por la acción de la insulina. Los AGL procedentes de la dieta se almacena en forma de TGC a través de la esterificación sucesiva de una molécula de glicerol, generando monoglicerol, diacilglicerol y finalmente triacilglicerol. (**Czech M. P y cols, 2013**) Ensayos *in vitro* han demostrado que el incremento en las concentraciones intracelulares de AGL en los adipocitos está acompañado por el incremento de productos intermediarios del metabolismo del almacenamiento de los AGL, entre estos el diacilglicerol el cual activa a las enzimas cinasas tipo C (PKC) (**Itani Samar I y cols, 2002**), en el músculo a la isoforma theta y en el hígado a la isoforma delta, las cuales pueden inactivar a las proteínas IRS a través de su fosforilación S/T. (**Samuel Varman T y cols, 2010**) (**Krebs M y cols, 2005**) Sin embargo, si bien se han documentado niveles elevados de AGL en sujetos con resistencia a la insulina, esto se debe a que la insulina inhibe tanto la actividad de la lipasa endotelial como la hidrólisis de los TGC intracelulares, por lo que estos sujetos lleva a cabo una mayor lipólisis y por lo tanto presentan niveles elevados de AGL (**Jocken Johan W. E y cols, 2013**). Por otro lado, en personas obesas debido a una mayor cantidad de tejido graso, se ha sugerido que aún cuando no presenten una mayor tasa de lipólisis, los niveles de AGL pueden encontrarse elevados simplemente por una mayor cantidad de reservas intracelulares de TGC en el tejido adiposo (**van de Woestijne A. P y**

**cols, 2011)** (**Koutsari Christina y cols, 2006**); Puesto que la mayoría de las personas con diabetes son obesos, es esperado que se encuentren niveles elevados de AGL en estos pacientes (**Karim M N y cols, 2013**). Por otra parte las concentraciones elevadas de los AGL no se encuentran consistentemente elevados en personas con resistencia a la insulina o con obesidad. En estudios realizados recientemente no se ha encontrado relación entre los niveles de AGL en sangre, la resistencia a la insulina (**Medina-Urrutia Aida y cols, 2015**) y los niveles intracelulares de diacilglicerol (**Amati F y cols, 2012**), así que esta teoría aún se encuentra en debate. Estas observaciones en su conjunto no establecen una causalidad directa entre la resistencia a la insulina y los niveles elevados de AGL.

#### **1.6.1.2 Citocinas**

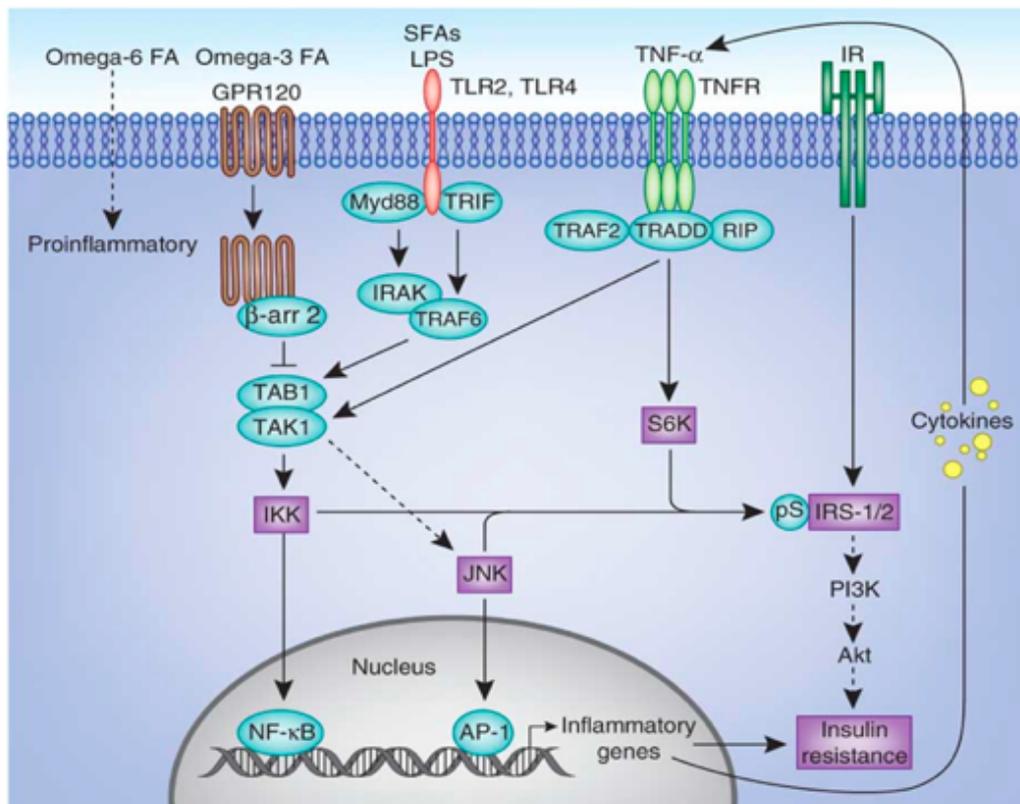
Se ha documentado que las personas obesas presentan una respuesta inflamatoria crónica, de bajo grado, diferente a la que se presenta en otras patologías como la sepsis. Esta inflamación de bajo grado se caracteriza por concentraciones sanguíneas elevadas de citocinas, entre estas la interleucina  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) (**Aye Irving L.M.H y cols, 2013**) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) (**Cruz Nathalia G y cols, 2013**) (**Walsh Jennifer M y cols, 2013**), las cuales se han correlacionado con la resistencia a la insulina (**Ma Kuifen y cols, 2012**) (**Greenberg A. S y cols, 2002**) (**Shoelson Steven E y cols, 2006**). También se ha sugerido que otras citocinas, como la Interleucina 6 (IL6) podrían estar relacionadas con la resistencia a la insulina (**Kraakman M. J y cols, 2013**) (**Scheller Jürgen y cols, 2011**).

El mecanismo propuesto para la correlación entre los niveles elevados de citosinas y la resistencia a la insulina es a través de la vía de señalización de NF- $\kappa$ B (**Solinas Giovanni y cols, 2010**). El TNF $\alpha$  puede contribuir al desarrollo de la resistencia a la insulina en los sujetos obesos a través de la señalización intracelular mediada por su receptor (TNF-R), el cual se expresa en el tejido

adiposo. La unión del  $\text{TNF}\alpha$  a su receptor inicia una serie de eventos de señalización intracelular que induce la activación de  $\text{NF}\kappa\text{B}$ .

Una vez que el  $\text{TNF}\alpha$  se une a su receptor, se inicia una cascada de señalización río abajo, que involucra varias proteínas, entre las que se encuentran las proteínas TRAF y TRADD que son reclutadas en el dominio citoplasmático del  $\text{TNF-R}$ , las proteínas adaptadoras RIP, así como la proteína TAK1, la cual finalmente lleva a la activación de la cinasa de serina-treonina  $\text{IKK}\beta$ . La proteína  $\text{IKK}\beta$  es una cinasa de serina-treonina, cuyo sustrato principal es  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  el factor inhibidor de  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  (Hayden Matthew S y cols, 2008). (Marette A y cols, 2003), sin embargo, se ha demostrado que la proteína  $\text{IKK}\beta$ , también interactúa con las proteínas IRS, fosforilándolas en residuos S/T e inactivándolas (White, Morris F y cols, 2002) Figura 4.

Figura 4. Mecanismos inflamatorios implicados en la resistencia a la insulina



White, Morris *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E413-E422, 2002

Varios estudios han mostrado correlación entre las citocinas  $TNF\alpha$  e  $IL1\beta$  y la resistencia a la insulina, sin embargo el papel para la  $IL6$  en la resistencia a la insulina no es consistente (**Steensberg Adam y cols, 2003**) (**Krook A y cols, 2008**) Entre las observaciones que se contraponen a la participación de la  $IL6$  en la resistencia a la insulina, una de las más importantes es que se ha demostrado de la secreción de  $IL6$  por el músculo esquelético en respuesta al ejercicio (**Febbraio Mark A y cols, 2004**), cuando hay un incremento en el consumo de glucosa por parte del músculo, mediante un mecanismo independiente de la acción de la insulina (**Nimmo M. A y cols, 2013**). Sin embargo, no se establecido si la  $IL6$  tiene un efecto directo sobre el músculo liso y el incremento en el consumo de glucosa, aunque se han reportado ensayos *in vitro* de una posible interacción entre la  $IL6$  y las proteínas IRS (**Weigert Cora y cols, 2006**).

### **1.6.2 Disfunción de la célula beta**

La disfunción de la célula beta se refiere a la incapacidad de mantener la producción de insulina para mantener los niveles de glucosa sanguíneos dentro del intervalo normal (**Thorens B y cols, 2013**). Durante la resistencia a la insulina se incrementa la demanda en la producción de insulina por parte del páncreas para compensar la resistencia a la insulina; así es que en fases iniciales se encuentra hiperinsulinemia tanto en ayuno como en postpandrio. Sin embargo, con el paso del tiempo el páncreas pierde la capacidad de seguir secretando cantidades elevadas de insulina y disminuyen progresivamente los niveles séricos de la misma, incrementándose al mismo tiempo los niveles de glucosa. De tal manera que la respuesta normal de la célula beta pancreática a la resistencia a la insulina es un incremento compensatorio en la secreción de insulina para mantener la normogluceemia (**Boitar Christian y cols, 2012**). Se ha sugerido que la DMT2 se desarrolla en aquéllos individuos que son incapaces de sostener esta compensación por parte de la célula beta Figura 4. Entre los mecanismos descritos que producen disfunción y falla de la célula beta se encuentran la glucolipotoxicidad y el estrés del retículo endoplásmico.

### **1.6.2.1 Glucolipototoxicidad**

De manera fisiológica la glucosa y los AGL se metabolizan en las mitocondrias mediante la cadena respiratoria (**Serra Dolors y cols, 2013**), sin embargo, cuando existe un incremento en la concentración sanguínea de estos sustratos (como en las personas con resistencia a la insulina) se puede sobrepasar la capacidad de oxidación de la mitocondria, lo cual resultará en un incremento en el potencial de membrana y en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (**Rindler Paul M y cols, 2013**). Si bien existen mecanismos para amortiguar y eliminar los metabolitos tóxicos producidos por la cadena respiratoria, el incremento en la producción de estas moléculas, puede sobrepasar la capacidad del sistema de amortiguación, generando así una disfunción mitocondrial que a largo plazo produce la muerte celular. Este mecanismo se ha descrito en la célula beta y se ha denominado glucolipototoxicidad. (**Van Raalte Daniel H y cols, 2011**) (**Barlow Jonathan y cols, 2013**)

### **1.6.2.2 Estrés del retículo endoplásmico**

Como se mencionó previamente, otro mecanismo de la disfunción de la célula beta es el estrés del retículo endoplásmico. Se ha observado que el estrés del retículo endoplásmico está asociado con el incremento marcado en la síntesis de insulina durante el periodo de hiperinsulinemia. (**Eizirik D. L y cols, 2013**) El estrés del retículo endoplásmico se induce cuando las proteínas no son plegadas adecuadamente, por lo que estas no se transportan al aparato de Golgi y se acumulan en el retículo endoplásmico o se liberan para su degradación, el exceso de proteínas en estos dos sitios conlleva a la activación del sistema UPR (unfolded protein response) el cual inicialmente tiene la finalidad de proteger a la célula pero a largo plazo puede ocasionar muerte celular.

## **1.7 El índice Homeostasis Model Assessment como método para evaluar resistencia a la insulina y la función de la célula beta**

Por todo lo anterior, la susceptibilidad de un individuo para desarrollar DMT2 se encuentra relacionada con la resistencia a la insulina y con la respuesta de la célula beta pancreática a esta alteración. Por lo tanto con el fin de identificar a los sujetos en riesgo de desarrollar DMT2 es importante determinar estos dos parámetros (**Wallace T. M y cols, 2002**). Dentro de los métodos para la evaluar la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta se encuentra el índice de HOMA (Homeostais Model Assessment) desarrollado en 1985 por Matthews y colaboradores (**Wallace Tara M y cols, 2004**). Este índice se calcula a partir de los valores séricos de insulina y de glucosa en ayuno de una muestra de sangre. Este método tiene la ventaja de no ser invasivo, ya que solo se requiere una muestra de sangre, además de ser menos laborioso y de menor costo comparado con otros métodos que como la pinza euglucémica-hiperinsulinémica (**Antuna-Puente B y cols, 2011**), en el cuál se requiere de la hospitalización del sujeto, la infusión continua de glucosa e insulina y la toma de muestras continuas. Además este índice se ha validado en diversas poblaciones y se ha demostrado en estos estudios su utilidad clínica y epidemiológica. (**Nolan J. J y cols, 2012**)

## **2. JUSTIFICACION**

En nuestro país no se ha establecido la correlación existente entre la resistencia a la insulina y los AGL y la IL6. Una población de interés para evaluar estas correlaciones son los sujetos con GAA, puesto que estas personas representan un estadio temprano en la evolución de la enfermedad y se encuentran en alto riesgo para desarrollar la DMT2. Así es que la caracterización de estos sujetos puede permitir diseñar estrategias de detección temprana de sujetos en riesgo; para proporcionar el tratamiento adecuado y prevenir o retrasar el desarrollo de la DMT2.

### **3. HIPOTESIS**

La funcionalidad de la célula beta pancreática se encuentra disminuida en los sujetos con intolerancia a la glucosa de manera independiente de la resistencia a la insulina

Los niveles de ácidos grasos libres correlacionan con el índice de masa corporal y con la resistencia a la insulina en sujetos con glucosa alterada en ayuno

Los niveles de interleucina-6 correlacionan con la resistencia a la insulina en sujetos con glucosa alterada en ayuno

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar en una población mexicana el índice HOMA 2, los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y los niveles plasmáticos de interleucina 6, tanto en sujetos con glucosa en ayuno normal como alterada y realizar análisis de correlación.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Reclutar sujetos adultos que cumplan con los criterios de inclusión del estudio y acepten participar en el mismo, mediante la firma del formato de consentimiento informado.
2. Realizar la historia clínica de los sujetos, así como tomar evaluar sus parámetros antropométricos.
3. Obtener muestras de sangre de los sujetos de estudio para realizar análisis de química sanguínea y perfil de lípidos, así como se almacenaron alicuotas para la posterior determinación de las concentraciones séricas de insulina, de ácidos grasos libres y de IL-6.
4. Calcular los índices de HOMA2 mediante el software proporcionado por la Universidad de Oxford
5. Comparar los niveles séricos de insulina, IL-6, ácidos grasos libres y los índices HOMA2 entre los casos y controles

6. Comparar los niveles séricos de insulina, IL-6, ácidos grasos libres y los índices HOMA2 entre las categorías del IMC
  
7. Realizar las correlaciones entre los niveles de insulina, la IL-6, los ácidos grasos libres y los índice de HOMA2,
  
8. Realizar las correlaciones entre los índices de HOMA, la insulina, la IL6, los ácidos grasos libres con el IMC y la circunferencia de cintura

## **5. MATERIAL Y METODOS**

### **5.1 Población**

Sujetos reclutados de la consulta externa y de los servicios de hospitalización del Hospital General de Ticomán de los SSDF y del Hospital General Zona No 30 IMSS que cumplan los criterios de inclusión y que hayan aceptado participar en el estudio.

### **5.2 Diseño del Estudio**

Estudio transversal, analítico, de casos y controles.

### **5.3 Criterios de inclusión**

**5.3.1 Casos:** Sujetos adultos de 18 a 75 años, de ambos sexos, con presión arterial normal y con glucosa en ayuno mayor de 100mg/dl pero menor de 126mg/dl. Se corroborará el resultado inicial con una segunda prueba realizada al menos 3 días después de la primera.

**5.3.2 Controles:** Sujetos adultos de 18 a 75 años, de ambos sexos, con presión arterial normal y con glucosa en ayuno <100mg/dl.

### **5.4 Criterios de exclusión**

Pacientes con hipertensión arterial

Con tratamiento con hipolipemiantes, antidepresivos, hipoglucemiantes o esteroides

Insuficiencia hepática

Insuficiencia renal

Insuficiencia cardiaca

Historia de abuso de alcohol o fármacos

Enfermedades psiquiátricas

Enfermedades inmunológicas

Que no acepten participar en el estudio

### **5.5 Aspectos éticos**

A todos los sujetos se les informará ampliamente sobre los objetivos del estudio. Se mantendrá el anonimato de los participantes. **Se obtendrá consentimiento informado.** El estudio ha sido aprobado por los comités de ética de los dos Hospitales

**Hospital General de Ticomán: Folio 208010712**

**Hospital General de Zona No 30: Folio 38 Q 0125488**

### **5.6 Selección de sujetos**

#### **5.6.1 Entrevista inicial**

Durante la entrevista inicial se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión, si el sujeto es candidato se realiza su historia clínica, en la cual se interrogó sobre antecedentes personales, alergias, enfermedades, medicamentos, así como antecedentes familiares de diabetes.

Para las medidas antropométricas peso y talla se utilizó un estadímetro calibrado. La circunferencia de la cintura se tomó con una cinta métrica 1 cm por debajo de la cicatriz umbilical; la presión arterial se tomó con un esfigmomanómetro anaeroide después de al menos 10 minutos de reposo. Se dió una cita para toma de muestra de sangre.

#### **5.7 Toma de muestra de sangre**

Se citaron a los sujetos de estudio para la toma de la muestra de sangre venosa con al menos 10 horas de ayuno, se tomaron aproximadamente 15 ml de sangre en dos tubos diferentes. Uno se envió a procesar al laboratorio del Hospital correspondiente, donde se obtuvo una química completa y perfil de lípidos. Del segundo tubo se separó el suero y se realizaron alicuotas de 100 microlitros que se almacenaron a -70 grados centígrados para su posterior análisis.

## **5.8 Determinación de las concentraciones de insulina, interleucina 6 y ácidos grasos libres**

Las concentraciones de insulina y de IL-6 se midieron mediante kits de ELISA comerciales: DiagMex © y Bio-science © respectivamente. Los ácidos grasos libres se midieron con un método colorimétrico comercial, SIGMA-Aldrich ©.

### **5.8.1 Determinación de insulina**

El método de ELISA para la insulina (número de catálogo 1606z) requirió de 50 microlitros de suero, se realizó con las placas de ELISA estándar de 96 pozos aportadas por el proveedor, la lectura de la absorbancia se realizó con un espectrofotómetro a 450nm. La sensibilidad reportada por el fabricante es de 0.75 microUI/ml.

El método utilizado brevemente consisten en lo siguiente: en cada uno de los pozos se colocaron 50 microlitros de calibradores, controles y muestras, todos se corrieron por duplicado.

Posteriormente se agregaron 100 microlitros del reactivo Insuline Enzyme Reagent (anticuerpo tipo IgG, monoclonal de ratón de alta afinidad, purificado y etiquetado con enzima).

La placa se incubó durante 120 minutos a temperatura ambiente (20-27 grados centígrados), decantando el contenido al término de la incubación.

Se realizaron 3 lavados de los pozos con solución amortiguadora (surfactante en solución salina, diluido en agua desionizada).

Posteriormente se agregaron 100 microlitros de solución de trabajo (tetrametilbenzidina más peróxido de hidrógeno), incubándola por 15 minutos.

Finalmente se agregó la solución de paro (ácido clorhídrico 1 normal).

### **5.8.2 Determinación de interleucina 6**

El método de ELISA para la IL6 (número de catálogo 88-7966-29) requirió de 100 microlitros de suero, se realizó con las placas de ELISA estándar de 96 pozos, pre-cubiertas aportadas por el proveedor, la lectura de la absorbancia se realizó con un espectrofotómetro a 450nm. La sensibilidad reportada por el fabricante es de 2pg/ml.

Brevemente, el método se realiza como se describe a continuación: En cada uno de los pozos se colocaron 100 microlitros de los calibradores y de las muestras, todos se corrieron por duplicado, la placa se incubó durante toda una noche a 4 grados centígrados. Al término de la incubación se realizaron 5 lavados con 250 microlitros de solución amortiguadora.

Una vez completado este paso se agregaron 100 microlitros del anticuerpo de detección, incubando la placa por una hora. Al término de la incubación, nuevamente se realizaron 5 lavados. Posteriormente se agregaron 100 microlitros de 100 microlitros del reactivo Avidin-HRP (enzima de detección) proporcionado por el fabricante, incubando por 30 minutos, realizando 7 lavados al final de la incubación. En el paso siguiente se agregaron 100 microlitros de la solución de sustrato (tetrametilbenzidina) a cada pozo, realizando una incubación de 15 minutos. Finalmente se agregaron 50 microlitros de solución de paro

### **5.8.3 Determinación de ácidos grasos libres**

El método para medir los AGL (número de catálogo MAK044) es un análisis acoplado a enzima del que se obtiene un producto colorimétrico proporcional a la cantidad de AGL presentes en suero. El volumen de suero para la prueba fue de 50 microlitros. Se realizó en placas estándar de 96 pozos, la lectura de la absorbancia se realizó con un espectrofotómetro a 570nm. El método se describe a continuación brevemente, Se colocaron 50 microlitros de los calibradores y las muestras en cada pozo de la placa de ELISA, todos se corrieron por duplicado. Posteriormente se agregaron 2 microlitros del reactivo ACS (acil-CoA sintetasa) a cada pozo y se incubó por 30 minutos a 37 grados centígrados. Una vez terminada la incubación se agregaron 50 microlitros del reactivo Master Mix, (el cual se prepara con los reactivos proporcionado por el fabricante y contiene amortiguador, sonda, potenciador y enzima), incubando a 37 grados por 30 minutos. Al final de esta incubación se realiza la lectura.

### **5.9 Cálculo de los índices de HOMA**

Los índices de HOMA\_IR y HOMA\_B se calcularon a partir de los valores de glucosa e insulina obtenidos de la muestra de sangre en cada paciente. El

cálculo se realizó mediante el software que puede descargarse de forma gratuita de la página de la Universidad de Oxford.

### **5.10 Análisis estadístico**

La estadística descriptiva incluyó medias, medianas, intervalos de confianza, desviación estándar, porcentajes, y percentiles.

Para la comparación de las concentraciones de insulina, IL6 y AGL, así como de los índices HOMA entre los casos y controles, se utilizaron las pruebas t de student y U de Mann-Whitney según su distribución paramétrica. Para la comparación de las concentraciones de insulina, IL6 y ácidos grasos libres, así como de los índices HOMA entre las categorías del IMC se utilizó la prueba de ANOVA y ANOVA de Kruskal-Wallis según su distribución paramétrica.

Las correlaciones entre los índices de HOMA y las variables antropométricas (IMC, circunferencia de cadera) así como las concentraciones de insulina, IL6 y ácidos grasos libres se realizó mediante la prueba de Pearson.

Para determinar el mejor punto de corta para identificar a los sujetos con GAA mediante las concentraciones de insulina y los índices de HOMA se construyeron curvas ROC. Para comparar la efectividad de la curva ROC, se tomaron en cuenta tanto el área bajo la curva como la sensibilidad y la especificidad de la variable evaluada. Por lo tanto, mientras mayor sea el área bajo la curva la prueba tiene mayor significancia estadística. La sensibilidad y especificidad por arriba del 80% se consideró de utilidad clínica porque permite identificar de manera adecuada a 80 de cada 100 sujetos evaluados.

Para todas las pruebas se tomó un nivel de significancia de 0.05. Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS en su versión 20 IBM ©.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Población de estudio

En el periodo comprendido de agosto del 2011 a noviembre del 2014 se entrevistaron un total de 271 sujetos, de estos 181 sujetos cumplieron los criterios de inclusión y aceptaron participar en el estudio, (132 mujeres y 49 hombres) 77 casos (60 mujeres y 17 hombres) y 104 controles (72 mujeres y 32 hombres). Las características de la población se muestran en la tabla 1. Como se puede apreciar no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de casos y controles en relación al IMC, circunferencia de cintura, concentraciones de colesterol total, TGC, y C-HDL. Por el contrario en relación a la edad, los sujetos control fueron más jóvenes comparados con los sujetos con GAA, esta diferencia tuvo significancia estadística.

Tabla 1 Características de la población de estudio

	Peso Normal (n=52)			Sobrepeso (n=61)			Obesidad (n=68)		
	Controles	GAA	P	Controles	GAA	p	Controles	GAA	P
Edad	37.9 (33.9-41.9)	49.4 (43.2-55.5)	< 0.05	40.3 (36.9-43.7)	50 (45.7-54.3)	< 0.05	42.2 (38.0-46.4)	49.9 (46.9-52.9)	<0.05
IMC	22.82 (22.26-23.38)	23.71 (17-24.25)	>0.05	27.58 (27.06-28.11)	27.69 (27.20-28.18)	> 0.05	34.29 (33.09-35.48)	33.96 (32.76-35.16)	>0.05
CC	80.12 (77.15-83.1)	84.1 (79.27-88.92)	>0.05	91.51 (87.8-95.23)	91.58 (89.37-93.79)	> 0.05	105.5 (101.07-109.92)	104.4 (100.91-107.88)	>0.05
Col Tot	179.47 (166.87-192.08)	176.9 (147.18-206.61)	>0.05	181.16 (172.67-197.64)	189.03 (177.85-200.21)	>0.05	181.87 (171.72-192.01)	194.13 (182.16-206.1)	>0.05
TGC	110.5 (77)	114 (106.5)	>0.05	133 (109)	182 (118)	<0.05	134 (70)	160 (130.5)	>0.05
HDL-C	49.17 (45.15-53.18)	42.21 (32.83-51.58)	>0.05	45.24 (41.06-49.43)	42.21 (32.83-51.58)	>0.05	44.03 (40.67-47.39)	44.07 (40.96-47.19)	>0.05

## 6.2 Correlación entre las variables antropométricas y los índices HOMA e insulina

Al realizar las correlaciones entre los índices HOMA y las variables antropométricas circunferencia de cintura e IMC, se demostraron correlaciones significativas entre el IMC (Figuras 5, 6 y 7), la circunferencia de cintura (Figuras 8, 9 y 10) y las concentraciones de insulina, así como ambos índices de HOMA. Las correlaciones con mayor significancia estadística se encontraron entre el índice la circunferencia de cintura, el IMC y el índice HOMA\_IR. (Tabla 2)

**Tabla 2 Coeficientes de correlación entre las variables antropométricas Índice de masa corporal (IMC), Circunferencia de cintura y los índices de HOMA y las concentraciones de insulina.**

	HOMA_IR		HOMA_B		Insulina	
	R	p	r	p	r	P
IMC	0.444	<0.001	0.168	<0.05	0.435	<0.001
Circunferencia cintura	0.466	<0.001	0.247	<0.01	0.4382	<0.001

Figura 5. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y las Concentraciones de Insulina

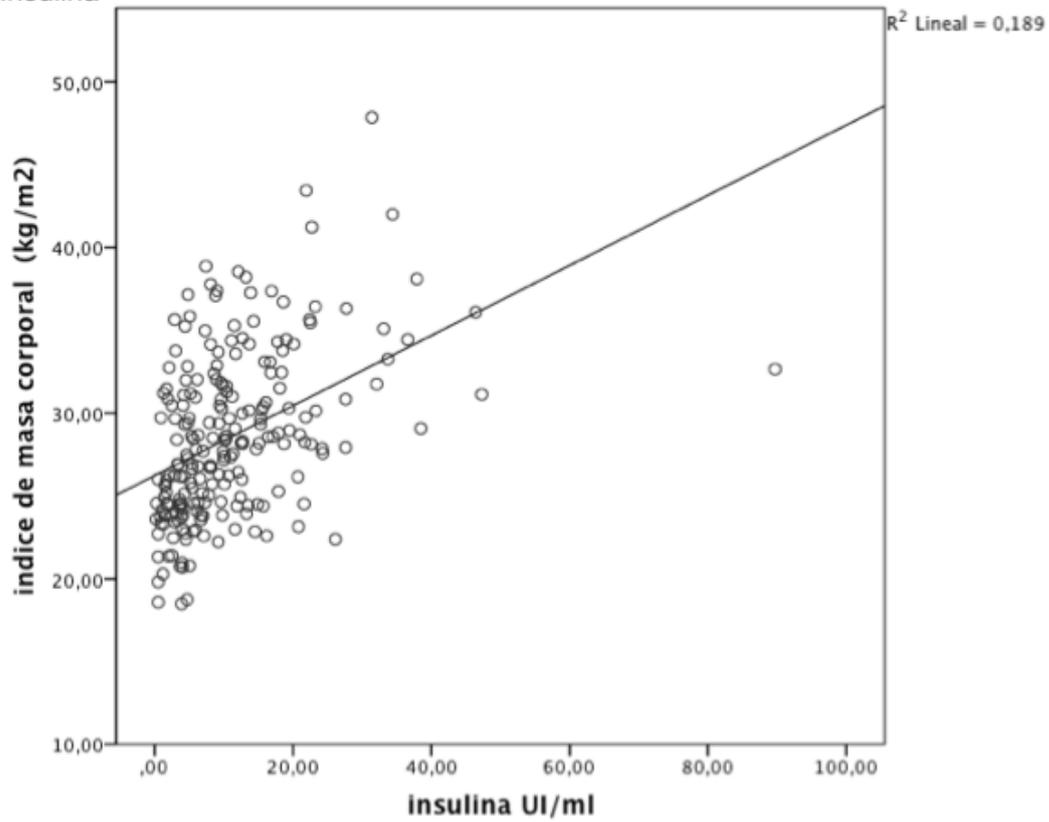


Figura 6. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y el índice HOMA\_IR

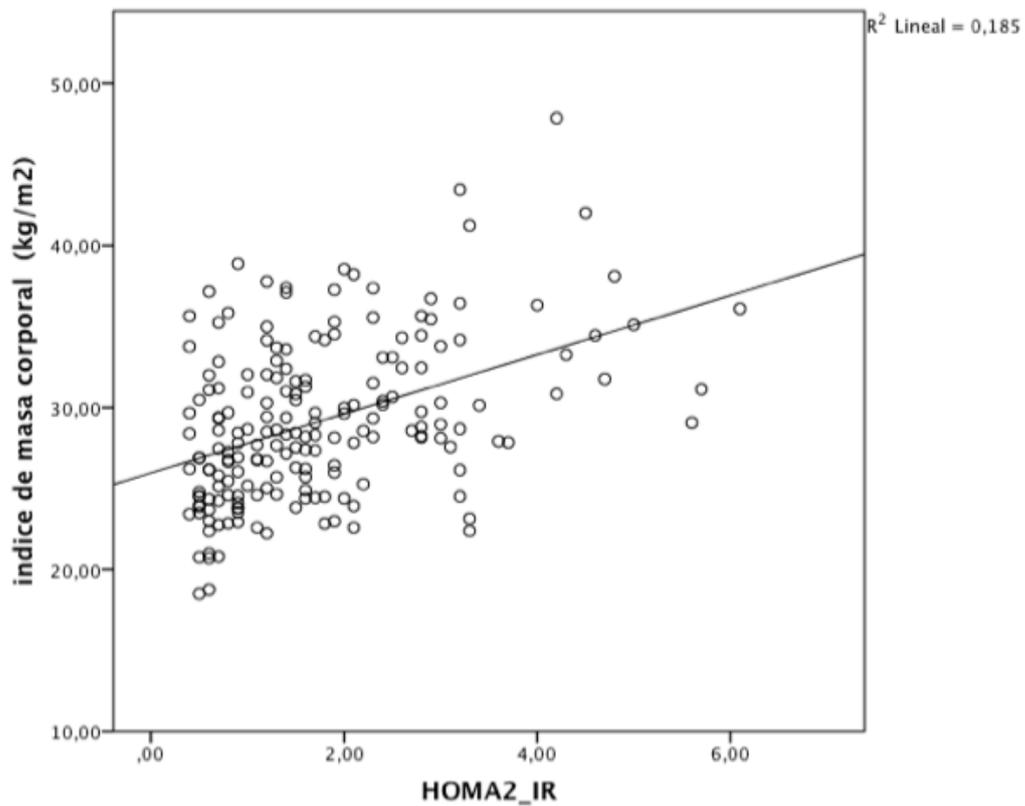


Figura 7. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y el índice HOMA\_B

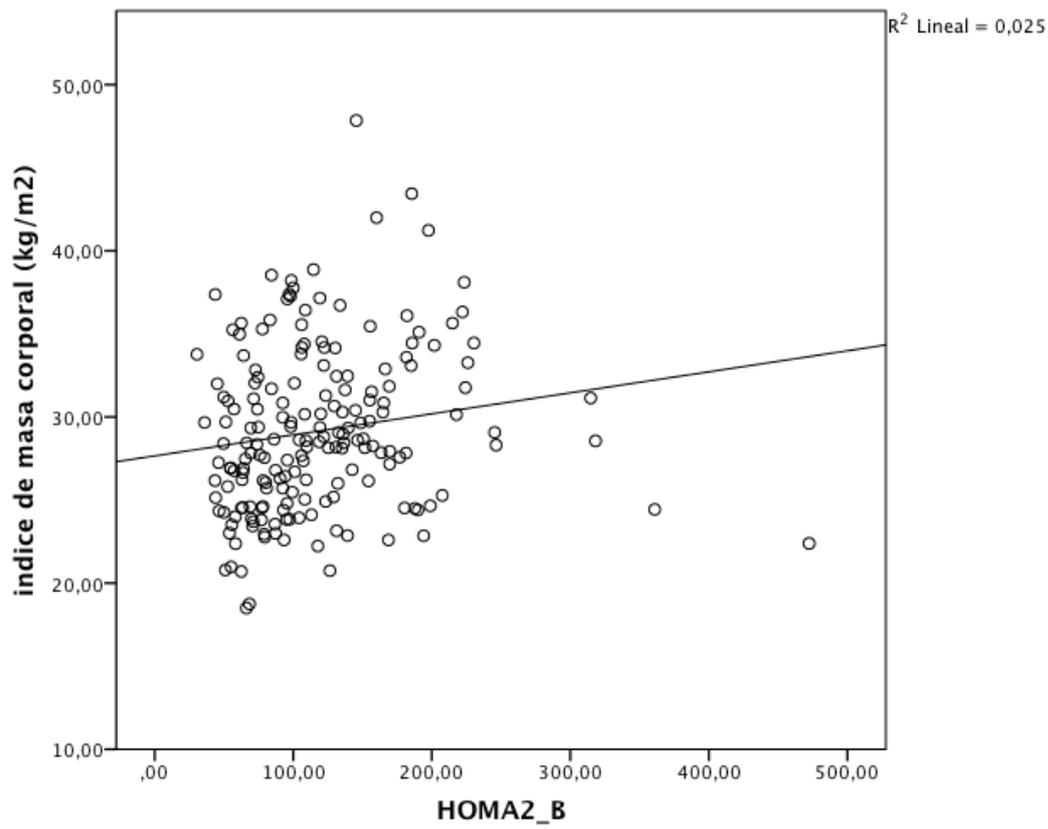


Figura 8. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y las concentraciones de Insulina

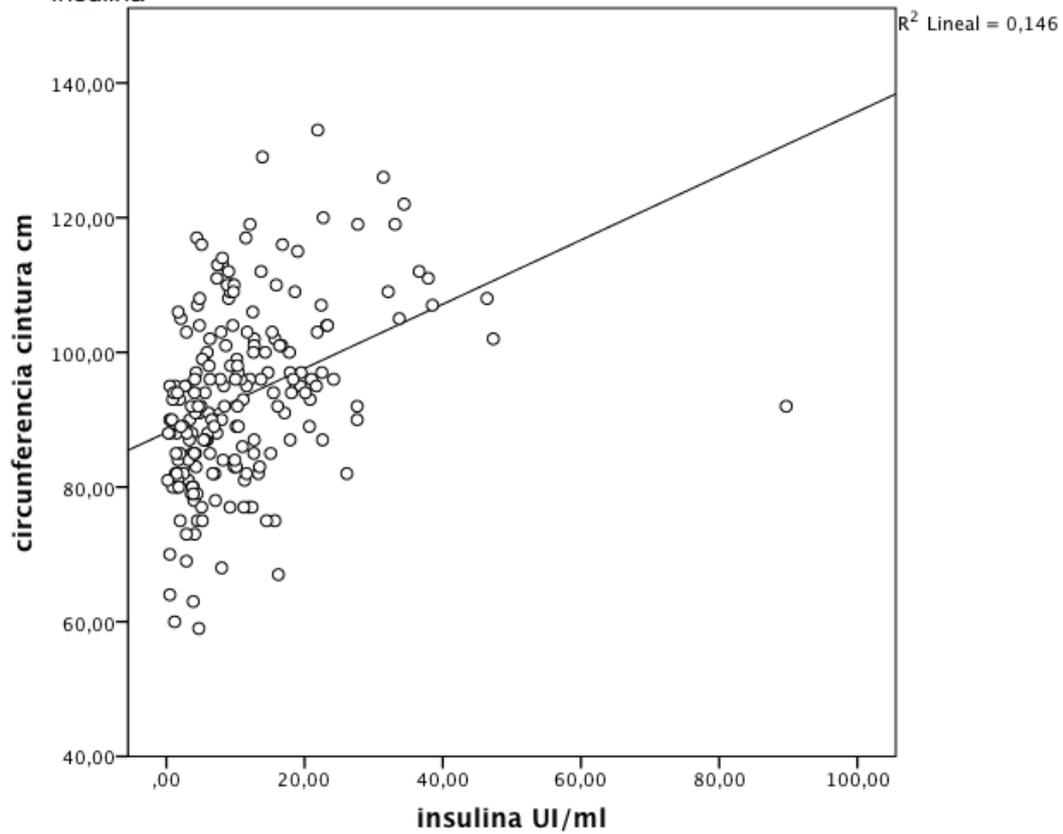


Figura 9. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y índice HOMA<sub>2</sub>IR

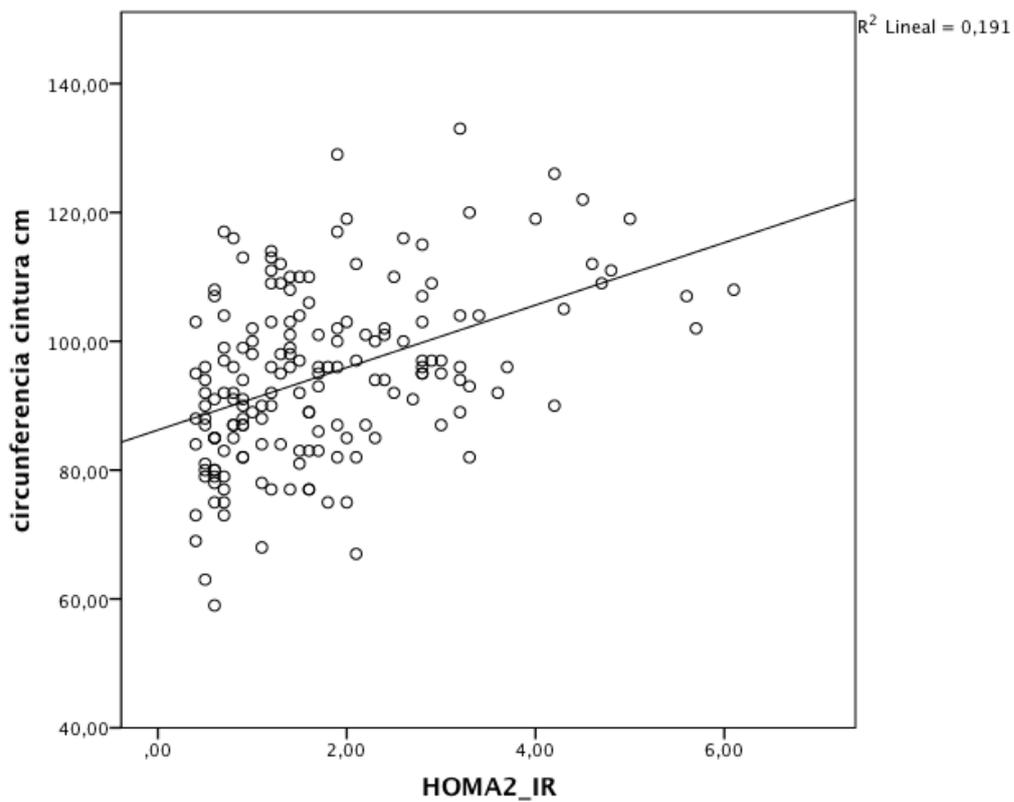
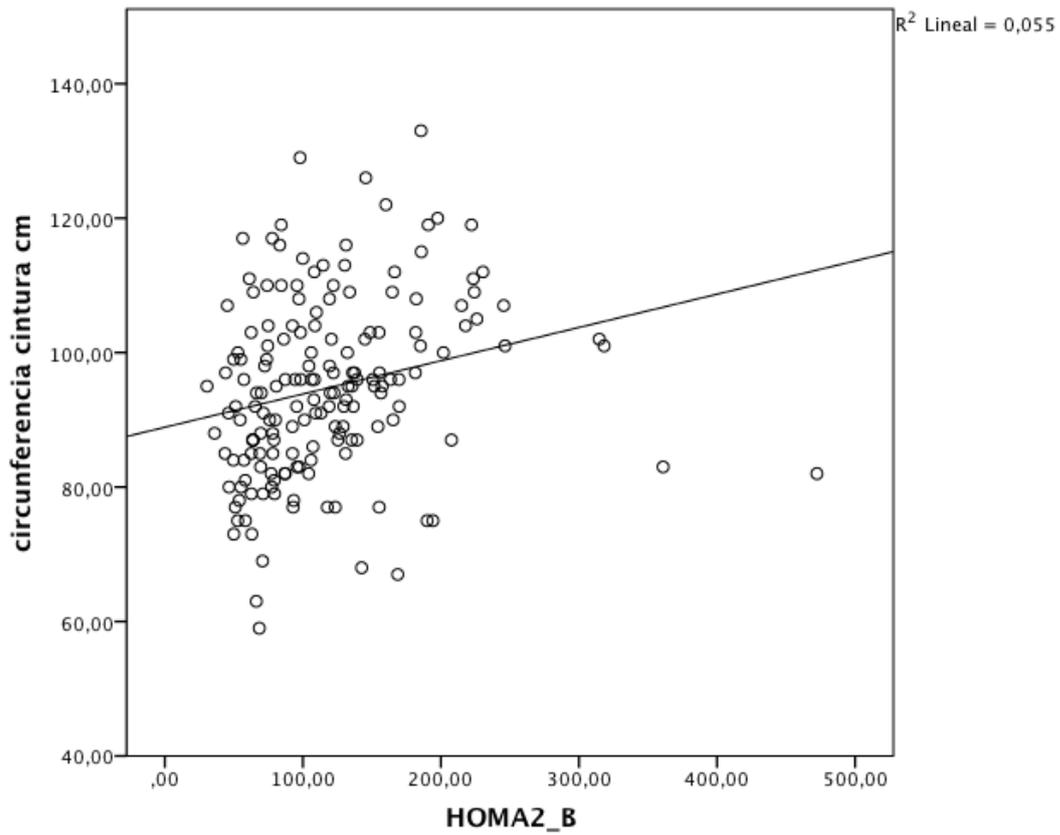


Figura 10. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y índice HOMA<sub>2</sub>B



### 6.3 Comparación de los niveles de insulina y los índices de HOMA entre los casos y los controles.

Al comparar los niveles de insulina y el índice de HOMA<sub>IR</sub> entre los dos grupos de estudio (casos y controles) de toda la población, se demostró que los niveles de insulina fueron significativamente más elevados en los sujetos con glucosa alterada en ayuno comparados con los controles: mediana insulina 11.4 vs 6.63 UI/ml ( $p < 0.001$ , Figura 11) respectivamente. Por otra parte, también se encontraron diferencias significativas en el HOMA<sub>IR</sub>, con niveles más elevados en los casos comparados con los controles: media HOMA<sub>IR</sub> 2.08 vs 1.47 ( $p < 0.001$ , Figura 12) respectivamente. Mientras que el índice HOMA<sub>B</sub> fue más alto en los sujetos control comparado con los casos: media HOMA<sub>B</sub> 117.7 vs 96.5 ( $p < 0.01$ , Figura 13) respectivamente.

Figura 11. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles

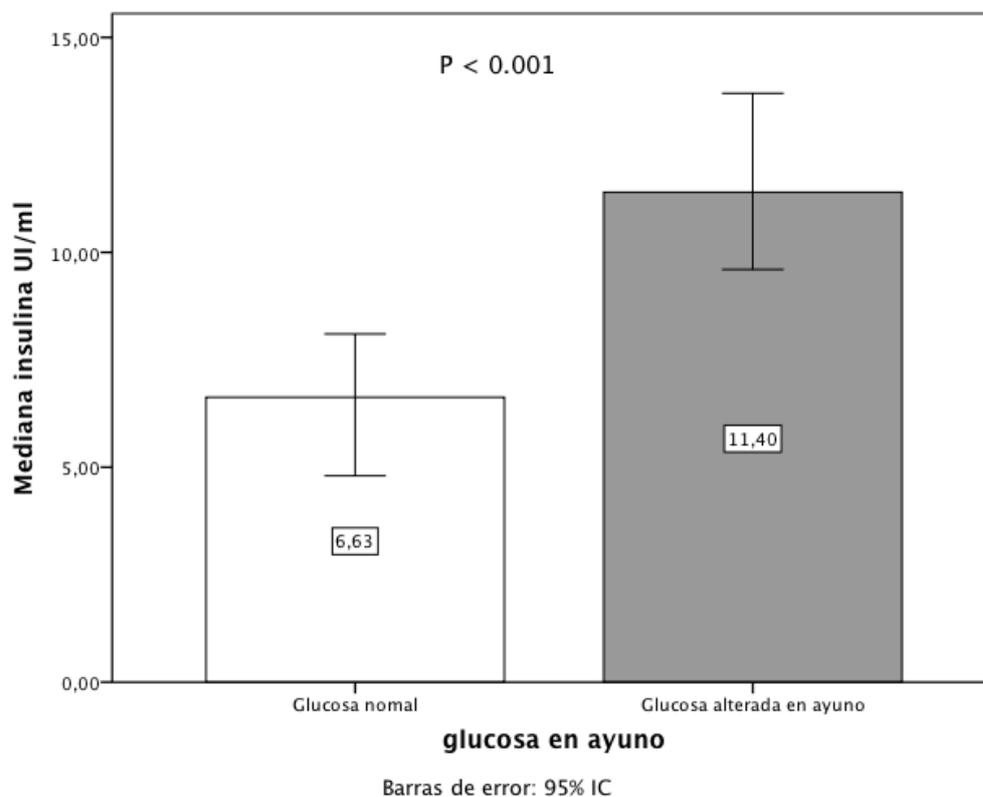


Figura 12. Comparación del índice HOMA\_IR entre los casos y los controles

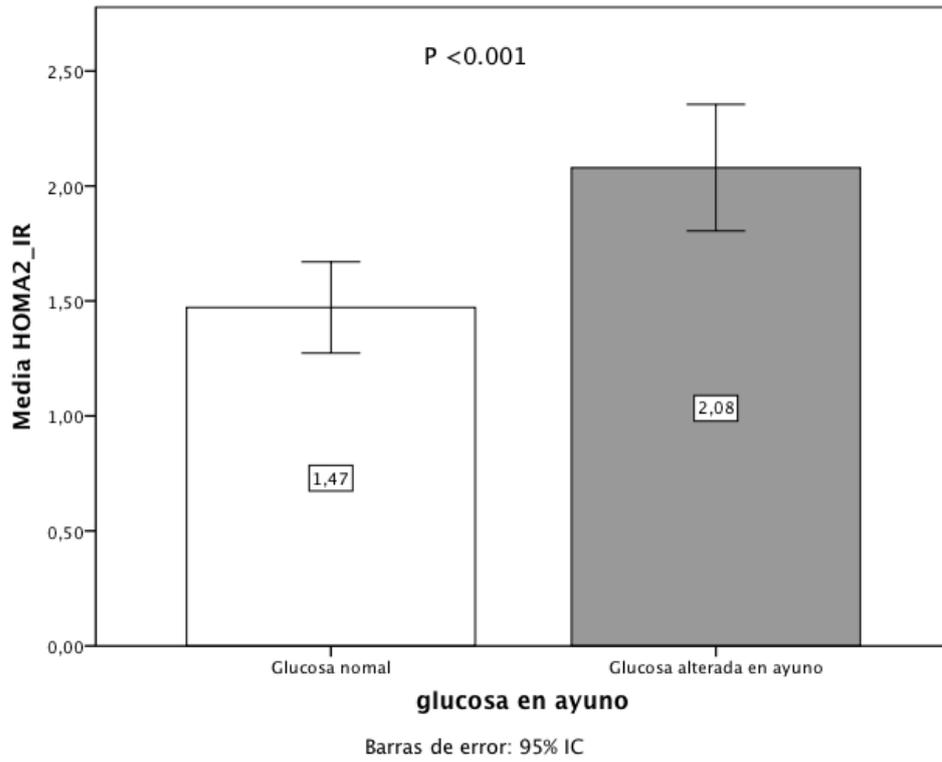
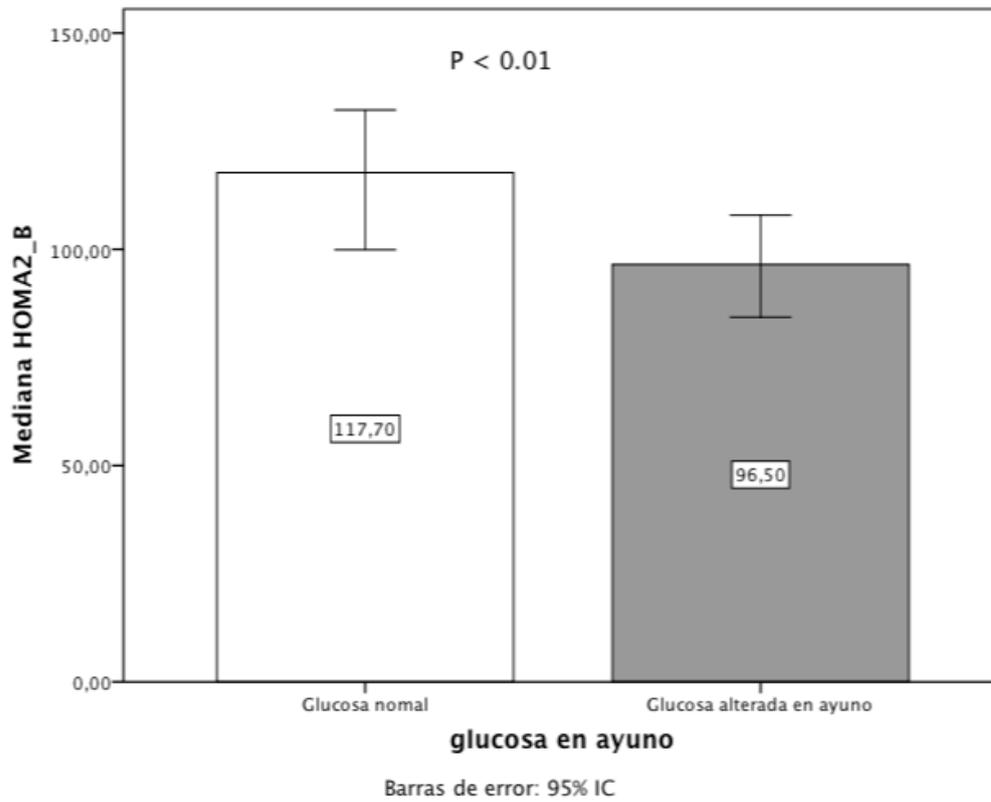


Figura 13. Comparación del índice de HOMA\_B entre los casos y los controles



#### 6.4 Comparación de los índices HOMA, insulina entre los casos y controles estratificados por el IMC.

Se realizó la comparación por los subgrupos de las diferentes categorías del IMC (peso normal, sobrepeso y obesidad) de los niveles de insulina y los índices de HOMA entre los casos y los controles. En este análisis se encontró que los niveles de insulina y el índice de HOMA\_IR se incrementan de forma significativa con cada categoría del IMC, tanto en el grupo de controles ( $p < 0.001$ , Figuras 14 y 15) como en los casos ( $p < 0.01$ , Figuras 17 y 18). Mientras que el índice HOMA\_B solo se incrementó de manera significativa en el grupo de controles (Figura 16,  $p < 0.05$ ) mientras que en el grupo de casos no se encontró un incremento significativo ( $p > 0.050$ , Figura 19)

Figura 14. Comparación de las concentraciones de insulina entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

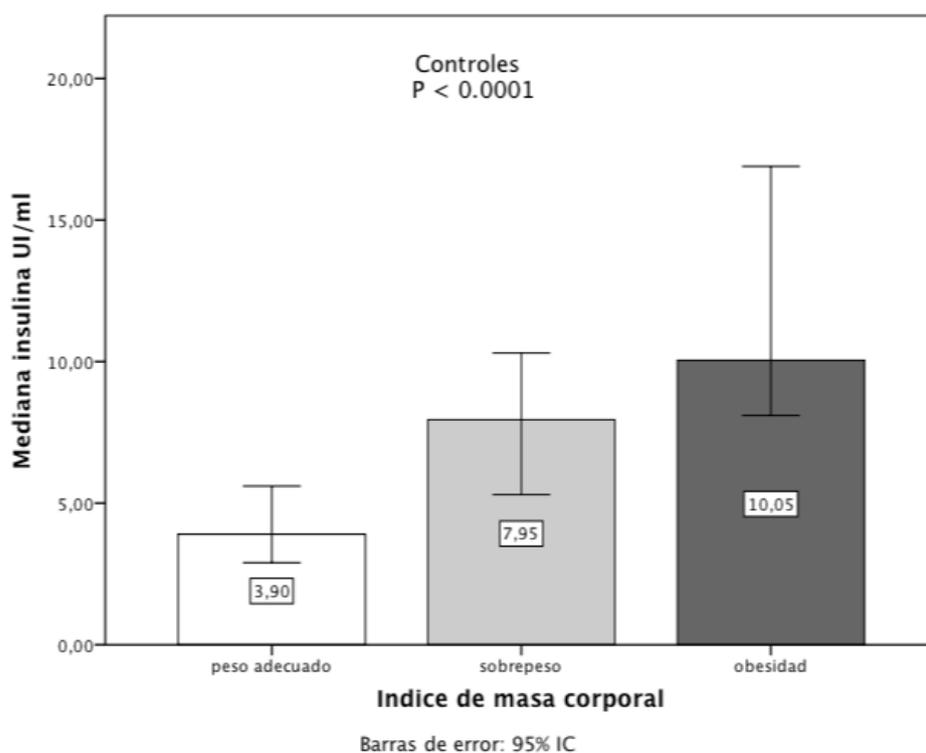


Figura 15. Comparación del índice de HOMA<sub>IR</sub> entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

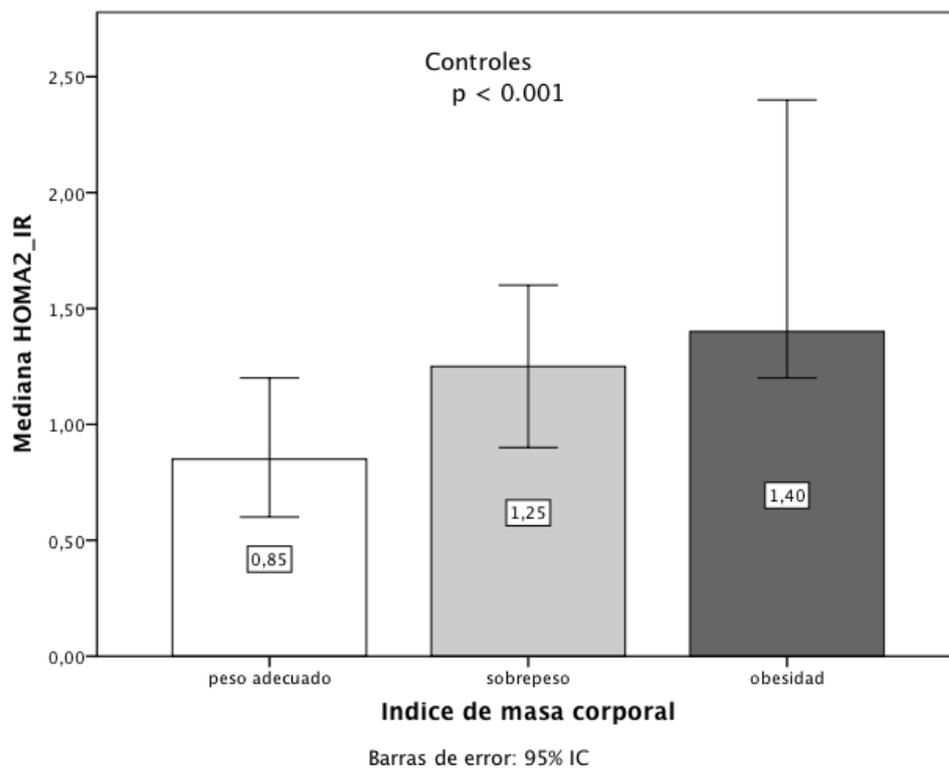


Figura 16. Comparación del índice de HOMA<sub>B</sub> entre los controles estratificados por el Índice de Masa Corporal

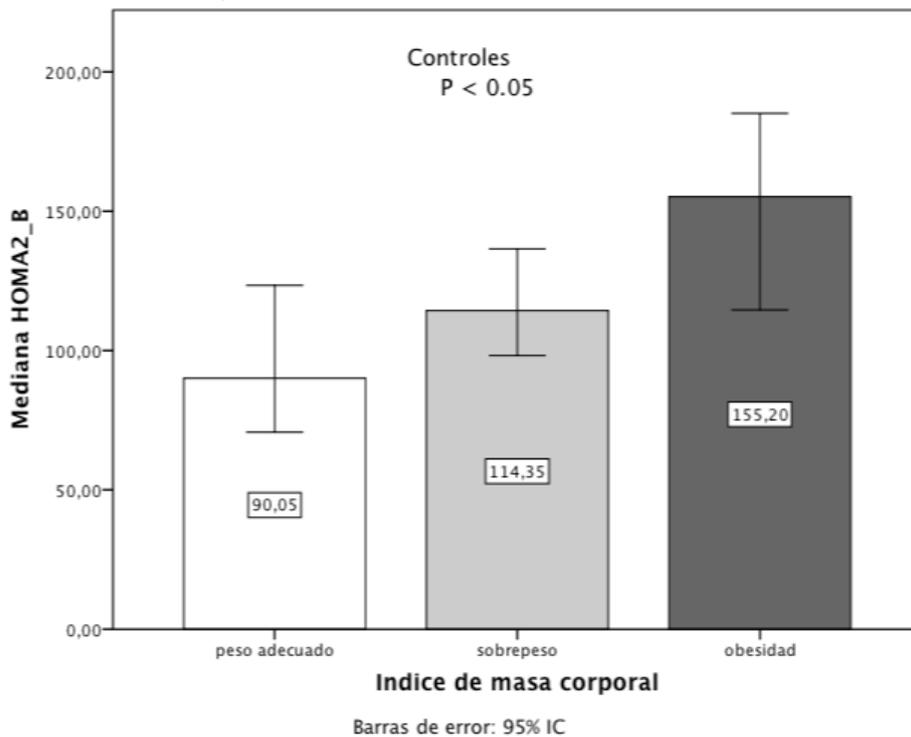


Figura 17. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal

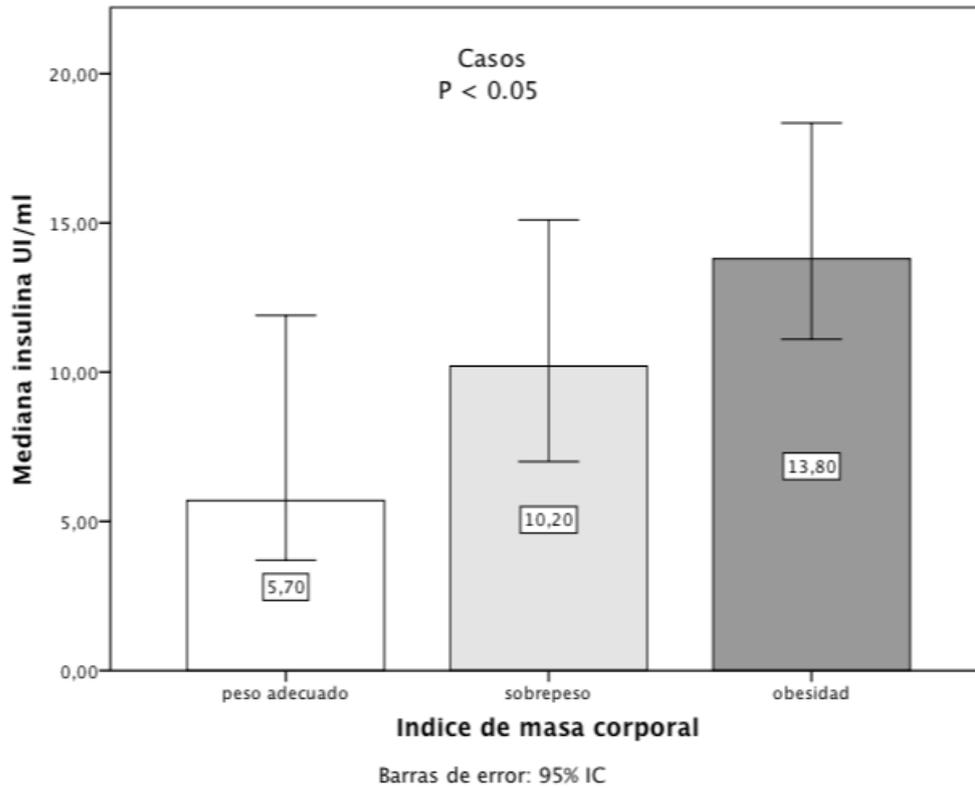


Figura 18. Comparación del índice HOMA<sub>2</sub>\_IR entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal

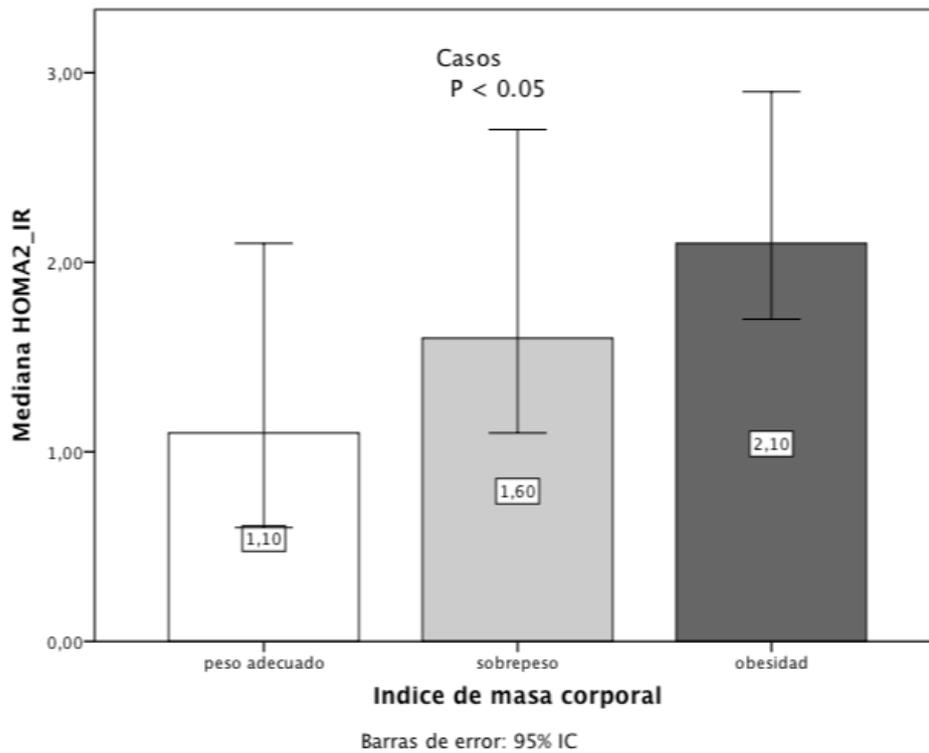
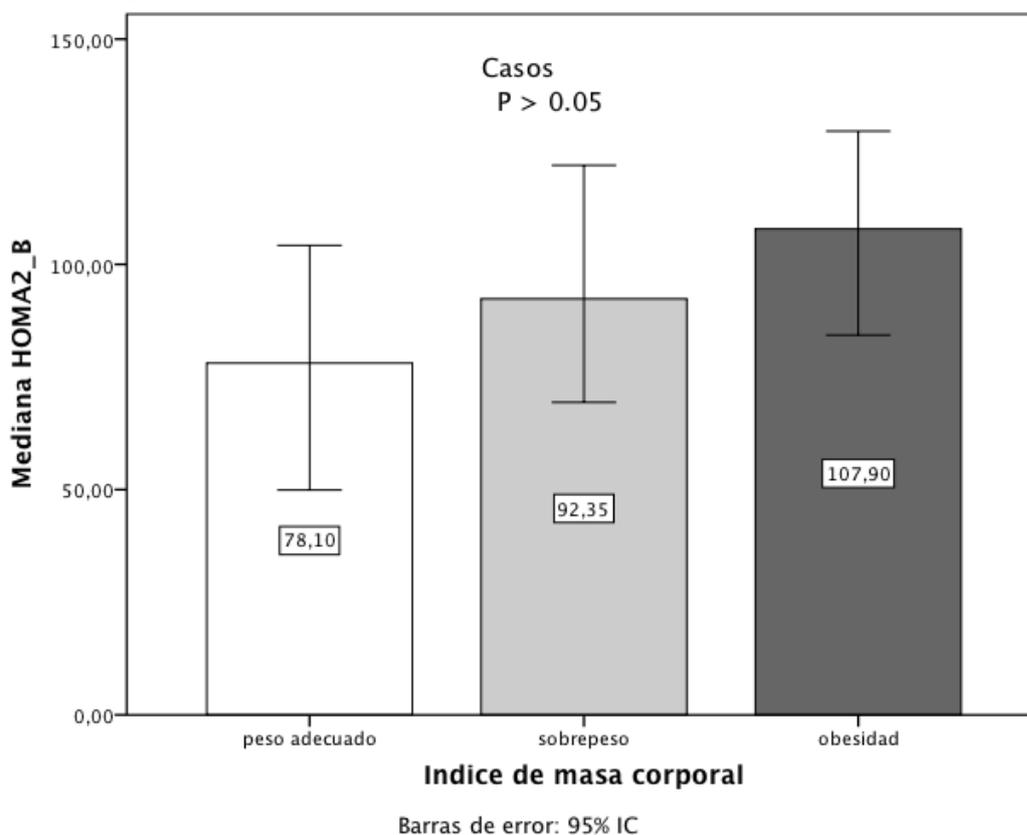


Figura 19. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos estratificados por el Índice de Masa Corporal



#### 6.4.1 Sujetos con peso normal

Al comparar en cada categoría del IMC los niveles de insulina y los índices de HOMA, se encontró que en los sujetos con peso normal (menor a 25) los niveles de insulina fueron más elevados en los sujetos control comparado con los casos, 3.9 vs 5.70 UI/ml ( $p > 0.05$ , Figura 20); el índice HOMA\_IR fue menor en los controles comparado con los casos, 0.85 vs 1.1 ( $p > 0.05$ , Figura 21), y el HOMA\_B mayor en los controles comparado con los casos, 90.05 vs 78.10 ( $p > 0.05$ , Figura 22) pero ninguna de estas diferencias alcanzó significancia estadística.

Figura 20. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con peso normal

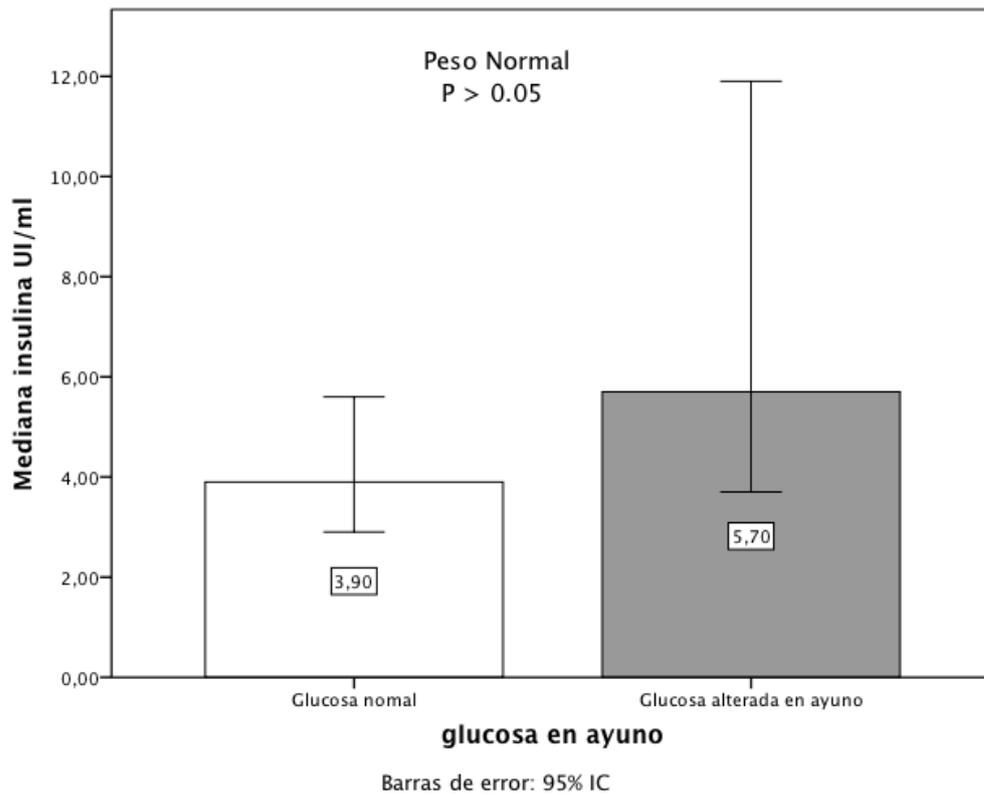


Figura 21. Comparación del índice HOMA<sub>2</sub>\_IR entre los casos y los controles con peso normal

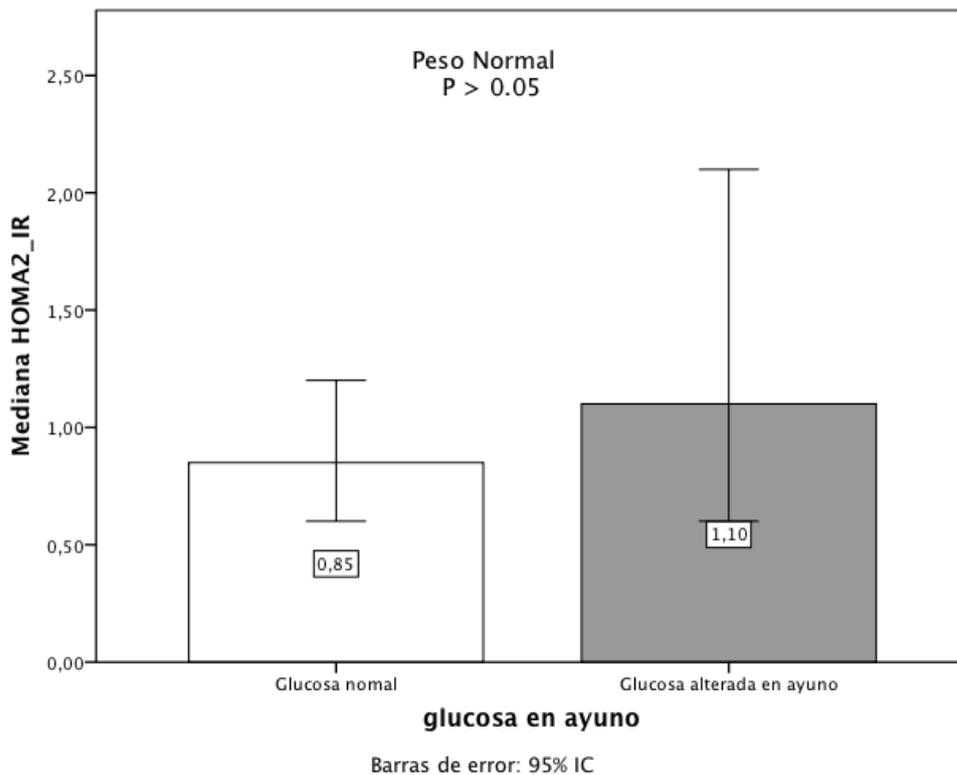
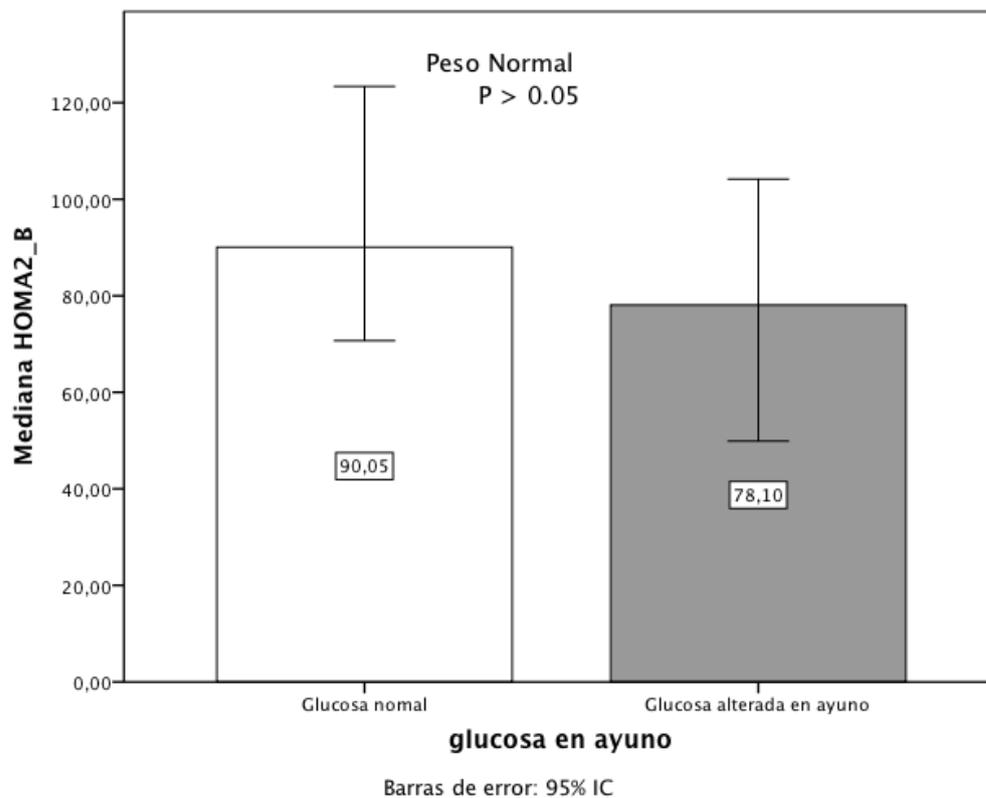


Figura 22. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con peso normal



#### 6.4.2 Sujetos con sobrepeso

En el análisis del grupo de sujetos con sobrepeso (IMC entre 25 y 30) las concentraciones de insulina fueron significativamente más elevadas en los casos comparados con los controles 7.95 vs 10.2 ( $p < 0.01$ , Figura 23), mientras que en el HOMA\_IR y el HOMA\_B no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, 1.25 vs 1.6 y 114.35 vs 92.35 respectivamente ( $p > 0.05$ , Figuras 24 y 25).

Figura 23. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con sobrepeso

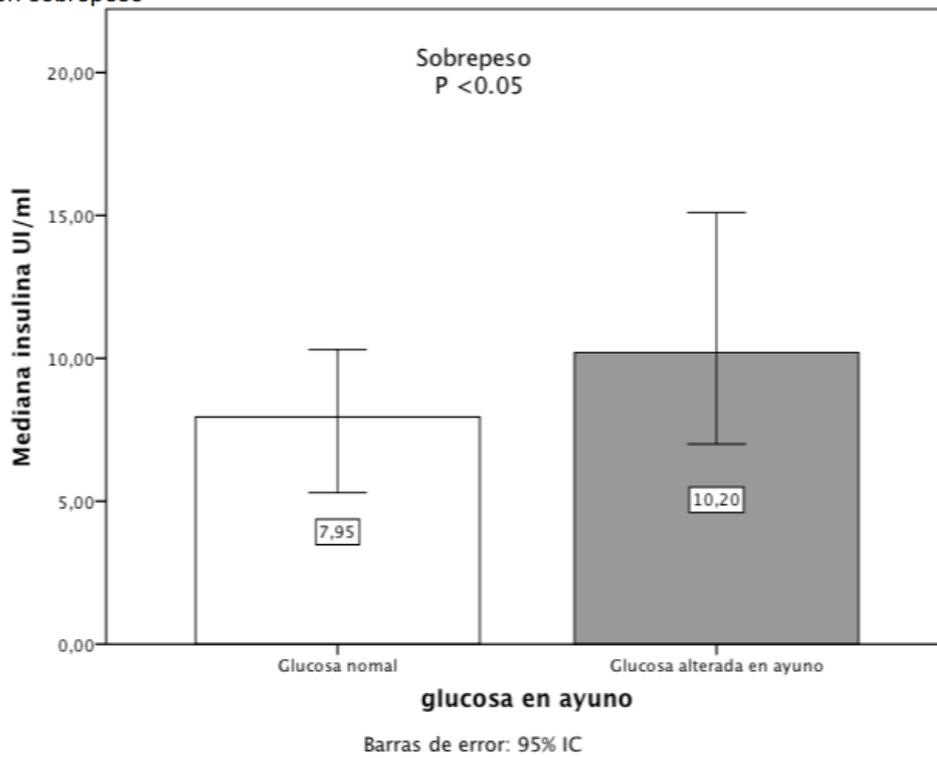


Figura 24. Comparación del índice HOMA<sub>2</sub>-IR entre los casos y los controles con sobrepeso

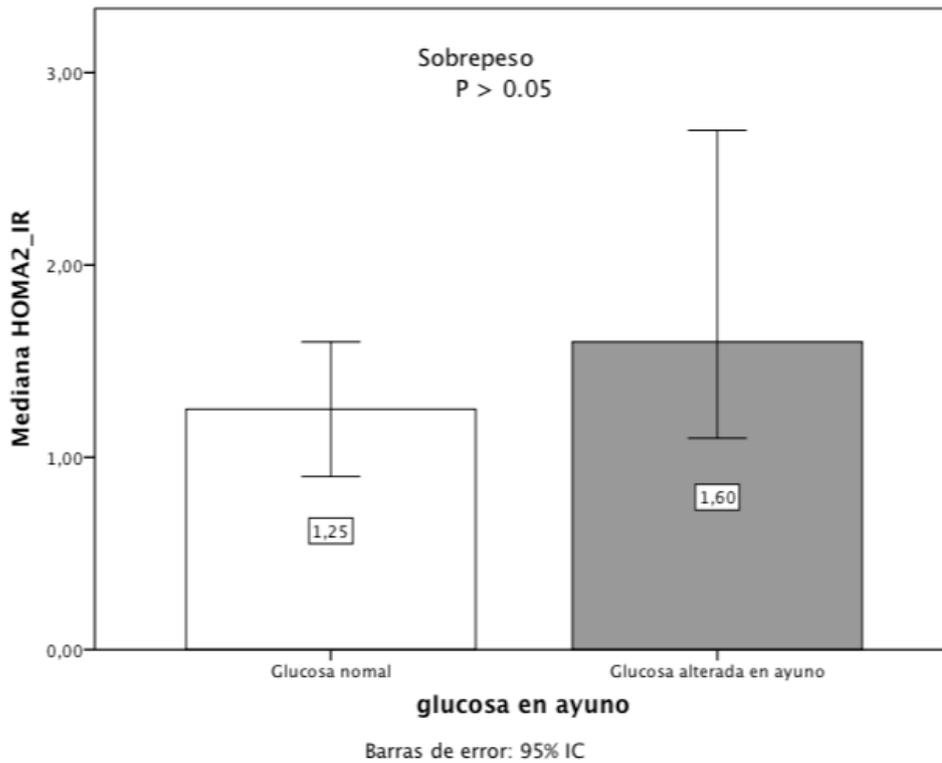
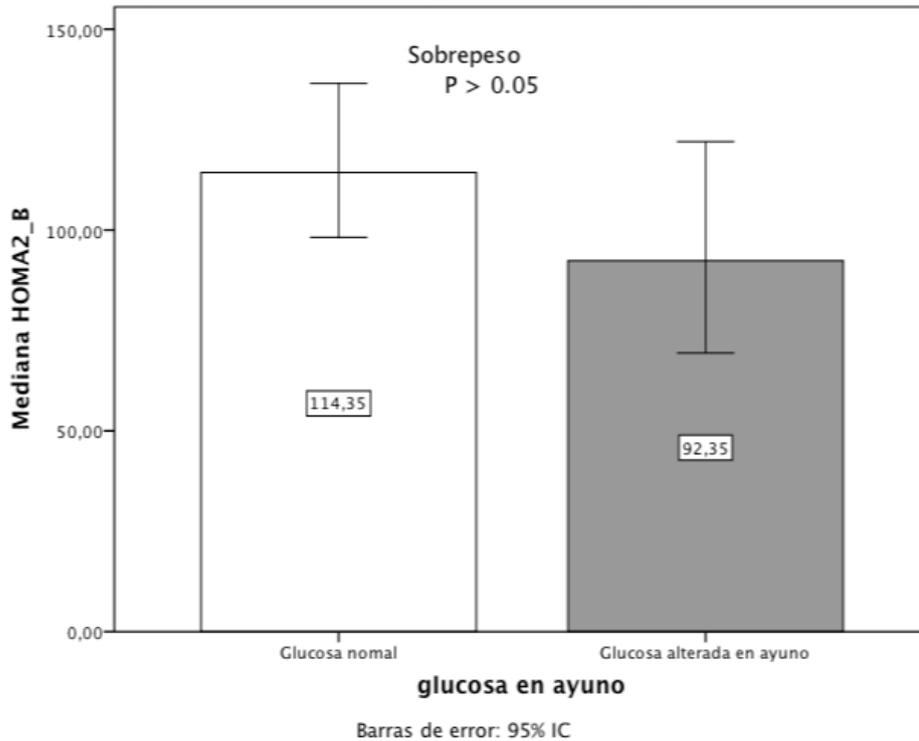


Figura 25. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con sobrepeso



#### 6.4.3 Sujetos con obesidad

Finalmente para los sujetos obesos, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de insulina y el HOMA\_IR entre los controles y los casos 10.05 vs 13.8 y 2.02 vs 2.44, ( $p > 0.05$ , Figuras 26 y 27), mientras que el HOMA\_B fue significativamente más elevado en los controles comparados con los casos 155.2 vs 107.9 ( $p < 0.01$ , Figura 28)

Figura 26. Comparación de las concentraciones de insulina entre los casos y los controles con obesidad

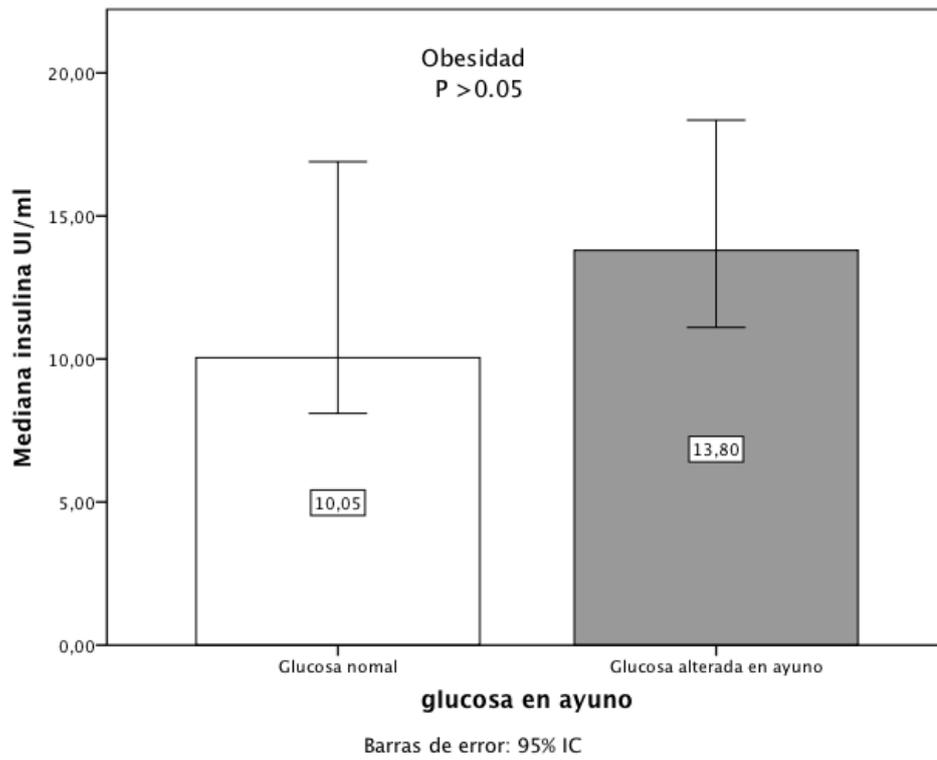


Figura 27. Comparación del índice HOMA<sub>2</sub>\_IR entre los casos y los controles con obesidad

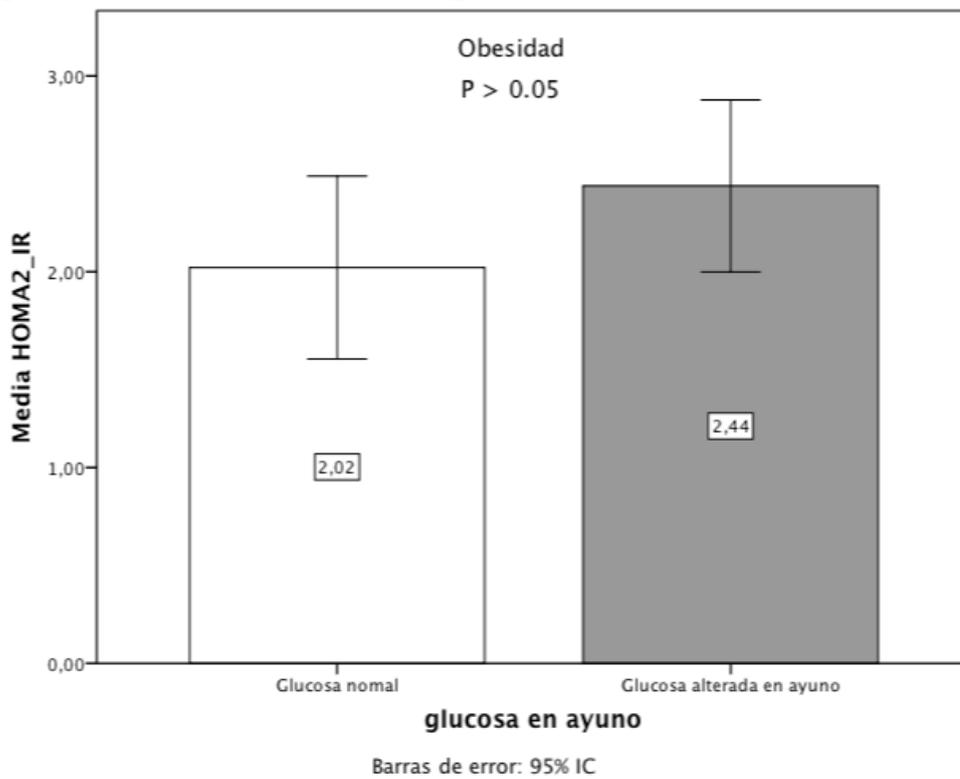
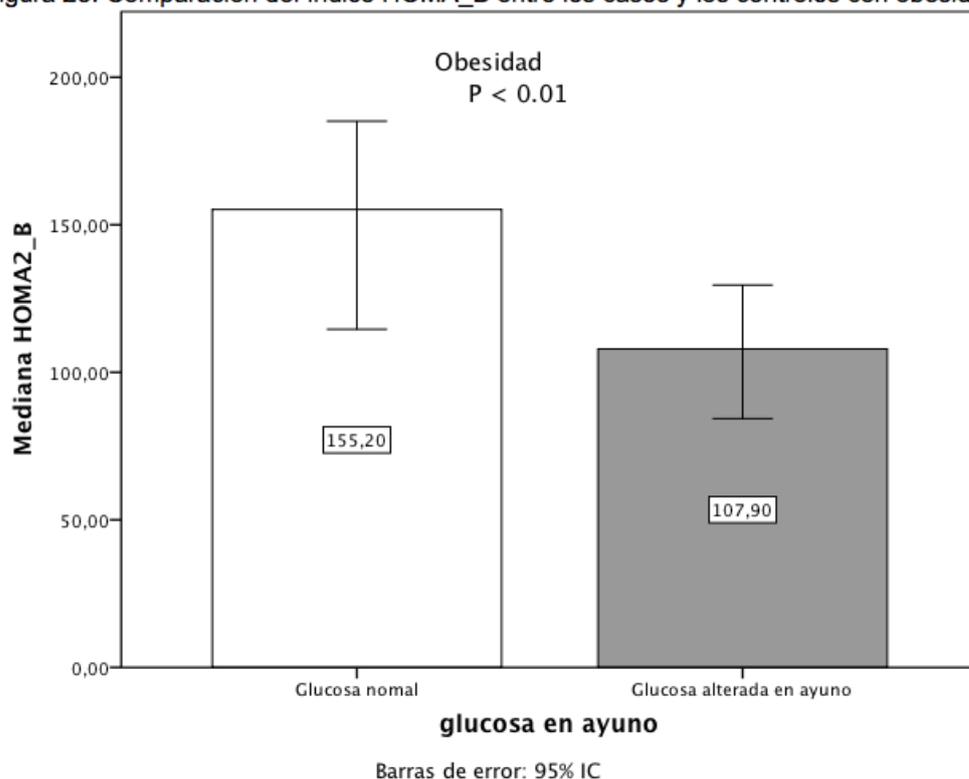


Figura 28. Comparación del índice HOMA\_B entre los casos y los controles con obesidad



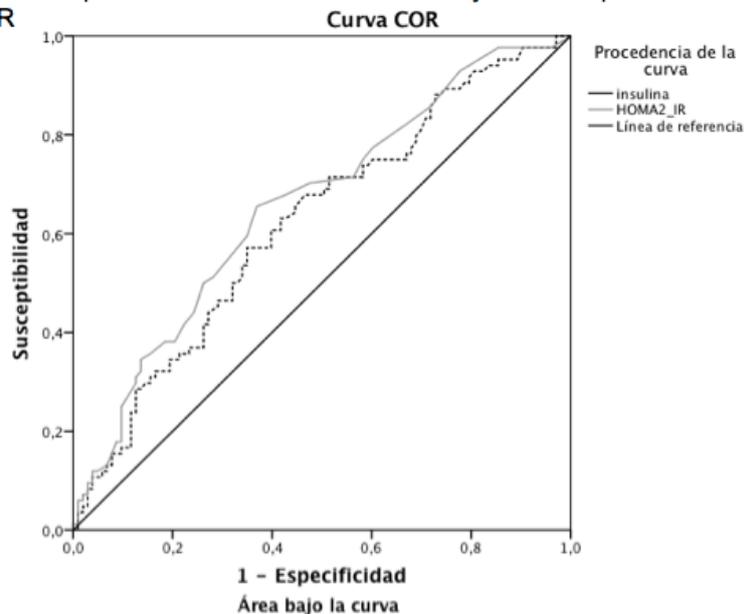
Estos resultados sugieren que la interacción entre la resistencia a la insulina (HOMA\_IR) y la funcionalidad de la célula beta (HOMA\_B) es distinta en cada una de las categorías del IMC.

### 6.5 Análisis de los índices de HOMA e insulina mediante las Curvas ROC

Se realizaron curvas ROC para evaluar la utilidad de la insulina y los índices HOMA\_IR y HOMA\_B para discriminar entre los pacientes con GAA y los controles. Como se muestra en la Figura 29, el área bajo la curva (AUC) para la insulina fue de 0.623 (IC 95% 0.552-0.725,  $p < 0.01$ ), para el HOMA\_IR fue 0.658 (IC 95% 0.580-0.736,  $p < 0.001$ ) y para el HOMA\_B (identificar a los sujetos sin GAA) fue de 0.61 (IC 95% 0.524-0.700,  $p < 0.01$ , Figura 30). El mejor punto de corte para el HOMA\_IR fue 1.45, con una sensibilidad de 65.5% y una especificidad de 63.1%, para la insulina fue de 10.05 con una sensibilidad de 60.7% y una especificidad de 60.2%, finalmente para el HOMA\_B fue 98.5 con una sensibilidad de 61.9% y una especificidad de 54.8%. Como se había comentado, si bien la sensibilidad y la especificidad de todas las variables tienen

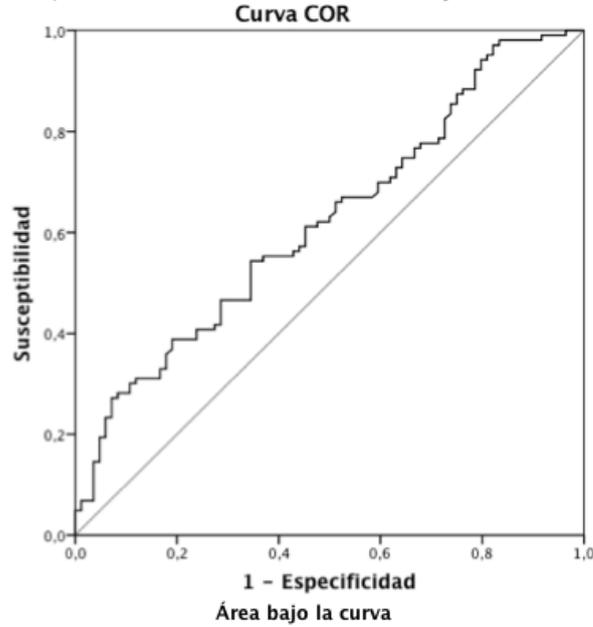
significancia estadística (a excepción de la especificidad del HOMA\_B), la utilidad clínica es limitada, porque una sensibilidad del 60% tendría un porcentaje de falsos negativos del 40% (sujetos que presentarían la prueba positiva aún sin tener la condición) y una especificidad del 60% tendría un porcentaje de falsos positivos del 40% (sujetos que presentarían la prueba positiva y no tendrían la condición). Por lo tanto es deseable tener un método con mayor sensibilidad y especificidad.

Figura 29. Curva ROC para la discriminación entre casos y controles para la insulina y el índice HOMA\_IR



Variables resultado de contraste	Área	Error tip. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
insulina	,623	,041	,004	,543	,703
HOMA2_IR	,658	,040	,000	,580	,736

Figura 30. Curva ROC para la discriminación entre casos y controles el índice HOMA\_B



Variables resultado de contraste: HOMA2\_B

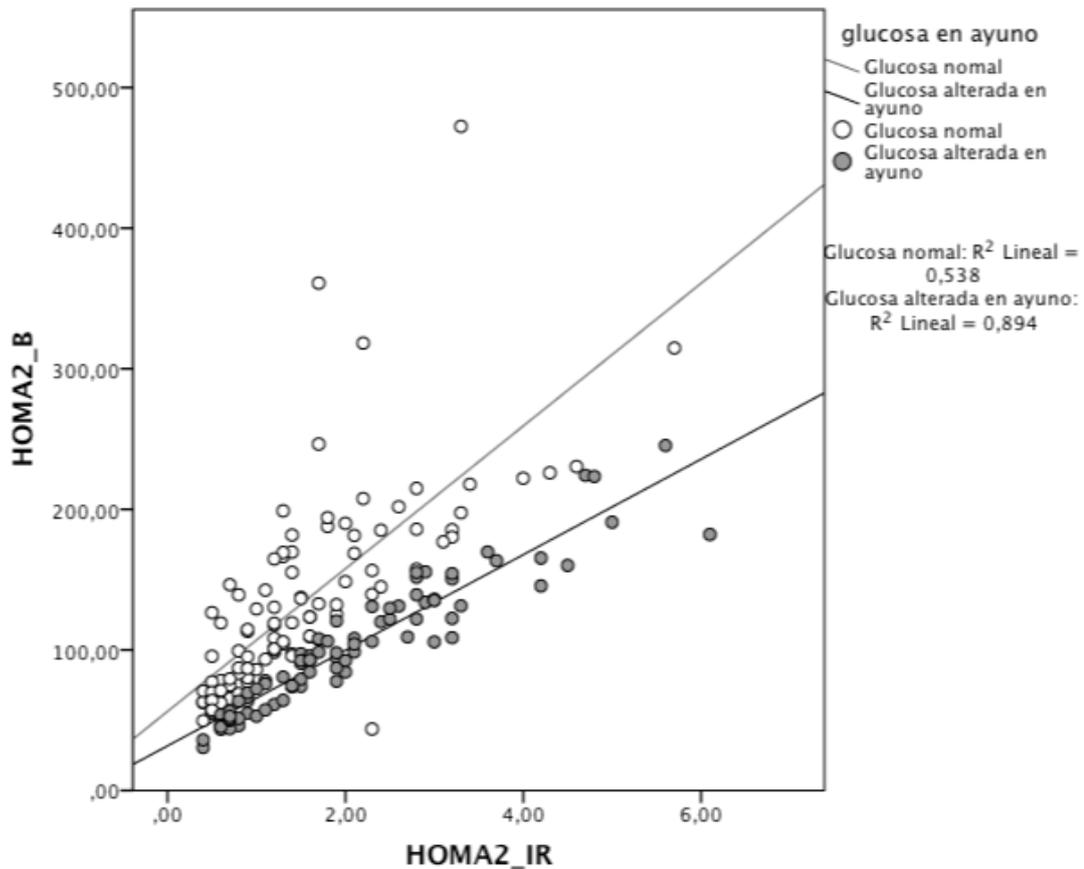
Área	Error tip. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
,622	,041	,004	,543	,702

## 6.6 Evaluación de la interacción entre HOMA\_IR y HOMA\_B

Se realizó una correlación entre el HOMA\_IR y el HOMA\_B dividiendo a la población de estudio en casos y controles para evaluar la respuesta de la funcionalidad de la célula beta (HOMA\_B) de cada individuo a la resistencia a la insulina (HOMA\_IR) dependiendo de su estado: caso o control. El coeficiente de correlación de Pearson para los sujetos con glucosa normal fue 0.744 ( $r^2=0.544$ ,  $p<0.001$ ), mientras que para los sujetos con GAA fue de 0.956 ( $r^2=0.915$ ,  $p<0.915$   $p<0.0001$ ); como se aprecia, ambas correlaciones tiene significancia estadística, sin embargo, la correlación de Pearson es mayor en el grupo de sujetos GAA, es decir por cada unidad de incremento del HOMA\_IR, hay un mayor incremento en el HOMA\_B, en los controles cuando se comparan con los casos. Por lo tanto, esta diferencia en las correlaciones indica que la capacidad de incrementar la función de la célula beta se encuentra disminuida en los sujetos con GAA. Como se puede apreciar en la

Figura 31, para cada valor de HOMA\_IR el valor respectivo de HOMA\_B es menor para los sujetos con GAA comparado con el grupo control.

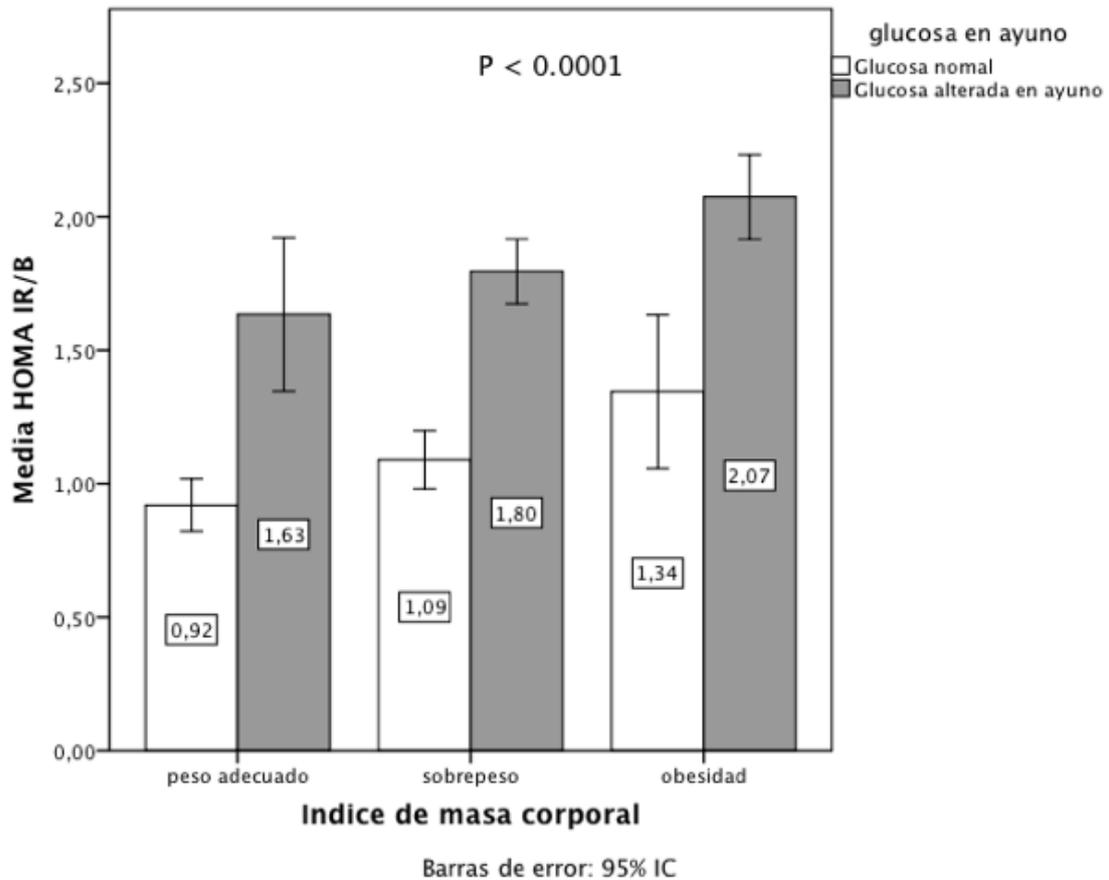
Figura 31. Correlaciones entre el HOMA\_IR y el HOMA\_B para los casos y los controles



### 6.7 Propuesta nuevo índice para evaluar la interacción entre la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta

Con base en estas observaciones se construyó un índice que denominamos  $HOMA_{IR/B}$  el cual se calculó dividiendo el valor de HOMA\_IR entre el valor de HOMA\_B y multiplicándolo por 100 ( $[HOMA\_IR/HOMA\_B]/100$ ). Al comparar los valores del índice entre los casos y controles para cada una de las categorías del IMC (a diferencia de la insulina, HOMA\_IR y el HOMA\_B se encontraron diferencias significativas entre los casos y los controles Figura 32).

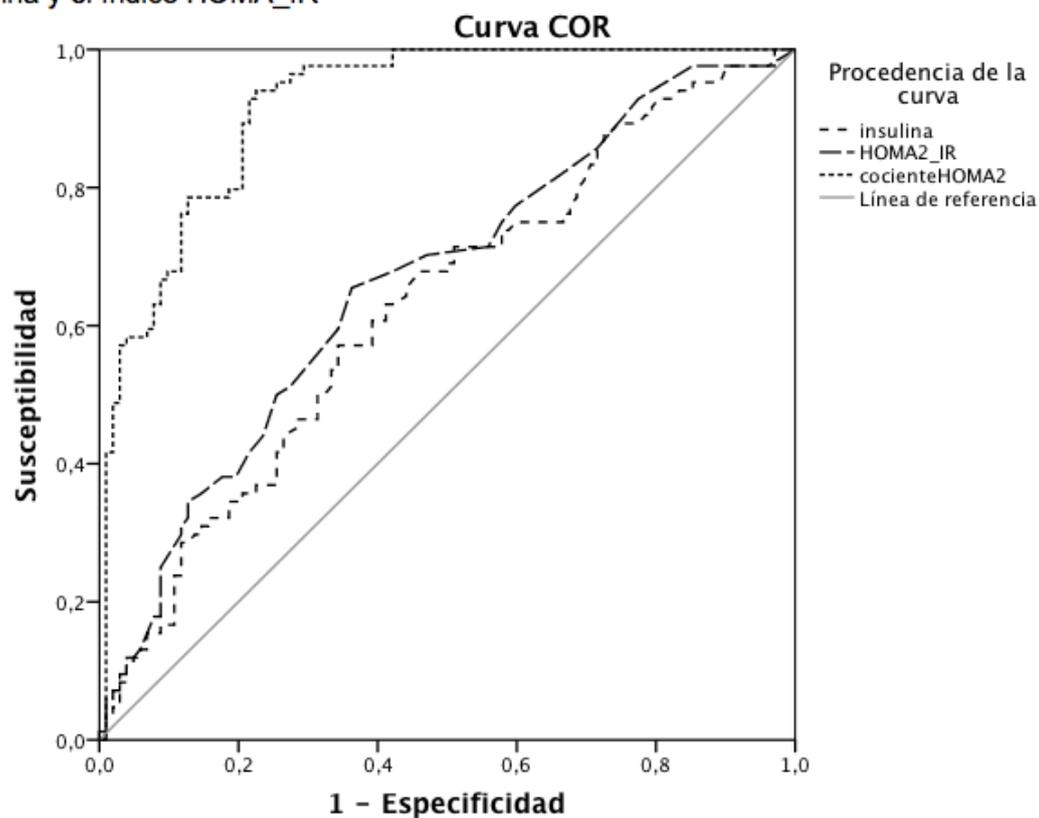
Figura 32. comparación del índice HOMA<sub>IR/B</sub> entre los casos y los controles, estratificados por índice de Masa Corporal



### 6.7.1 Curvas ROC para el índice propuesto

Al realizar curva ROC con este índice para discriminar entre los sujetos con GAA de los controles, el AUC fue de 0.992 (IC 95% 0.881-0.963,  $p < 0.00001$ , Figura 33). El mejor punto de corte para el diagnóstico de GAA fue 1.35 con una sensibilidad 91.7% y una especificidad de 78.6%. Este índice representa la capacidad que presenta la célula beta para incrementar su función para compensar la resistencia a la insulina, si el índice disminuye la capacidad de compensación es menor. La sensibilidad y especificidad del índice propuesto es muy superior a la que se obtuvo con las concentraciones de insulina y los índices HOMA<sub>IR</sub> y HOMA<sub>B</sub>

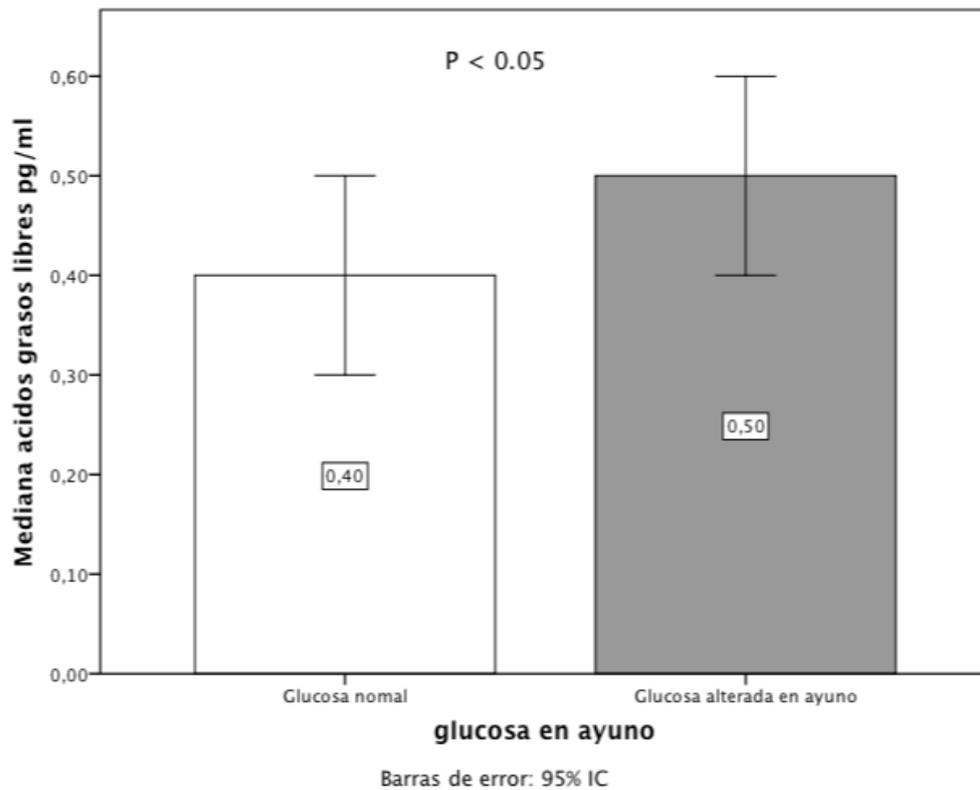
Figura 33. Curva ROC para el índice  $HOMA_{IR/B}$  comparado con las concentraciones de insulina y el índice  $HOMA_{IR}$



### 6.8. Análisis de ácidos grasos libres

Tomando en cuenta a toda la población, las concentraciones de AGL fueron significativamente más altas en los sujetos con glucosa alterada en ayuno comparados con los controles: mediana 0.4 vs 0.5 pg/ml ( $p < 0.05$ , Figura 34)

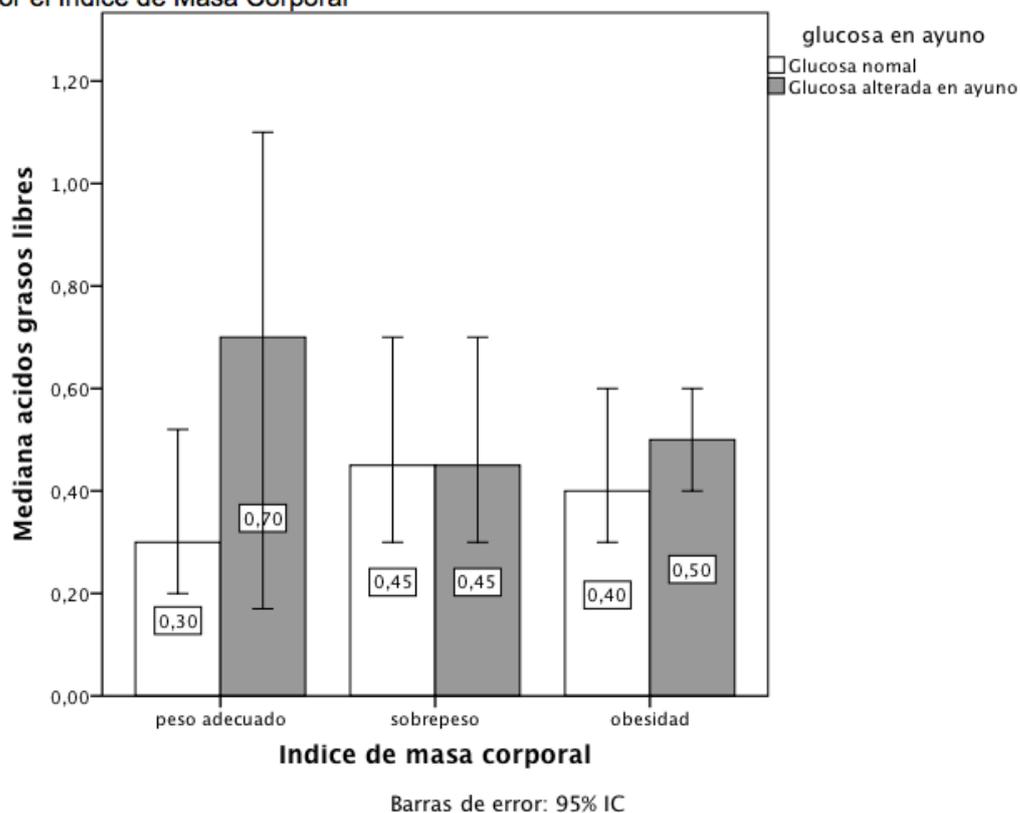
Figura 34. Comparación de los ácidos grasos libres entre casos y controles



### 6.8.1 Comparación de los AGL entre casos y controles estratificándolos por su índice de masa corporal

Como se muestra en la Figura 35, al realizar el análisis de las concentraciones de AGL entre los casos y controles por grupo de IMC, se observó una tendencia en lo sujetos con GAA a presentar concentraciones más elevadas con respecto a los sujetos control. Pero las concentraciones de AGL solo mostraron diferencias significativas entre los casos y los controles, en el grupo de peso normal, 0.3 vs 0.7 pg/ml ( $p < 0.05$ )

Figura 35. Comparación de los ácidos grasos libres entre casos y controles estratificados por el Índice de Masa Corporal



### 6.8.2 Correlación entre las variables antropométricas y los ácidos grasos libres

Al realizar las correlaciones correspondientes entre los AGL y las variables antropométricas, IMC (Pearson=0.068) y cintura de cadera (Pearson=0.118), no se encontraron correlaciones significativas. ( $p > 0.05$ , Figuras 36 y 37).

Figura 36. Correlación entre el Índice de Masa Corporal y las concentraciones de Ácidos Grasos Libres

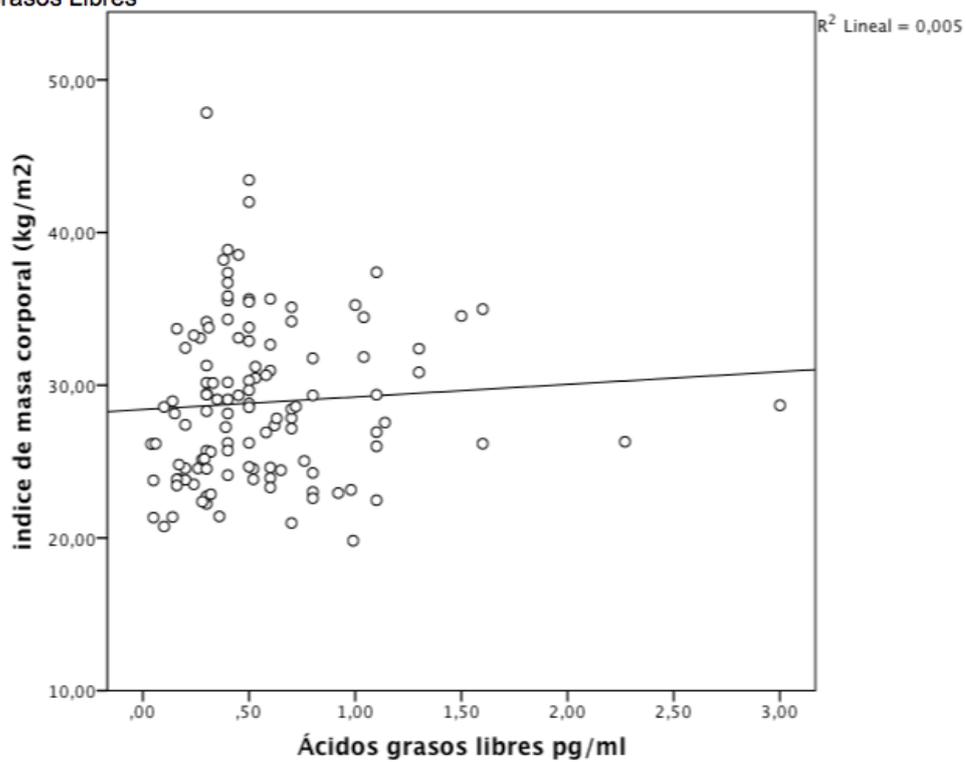
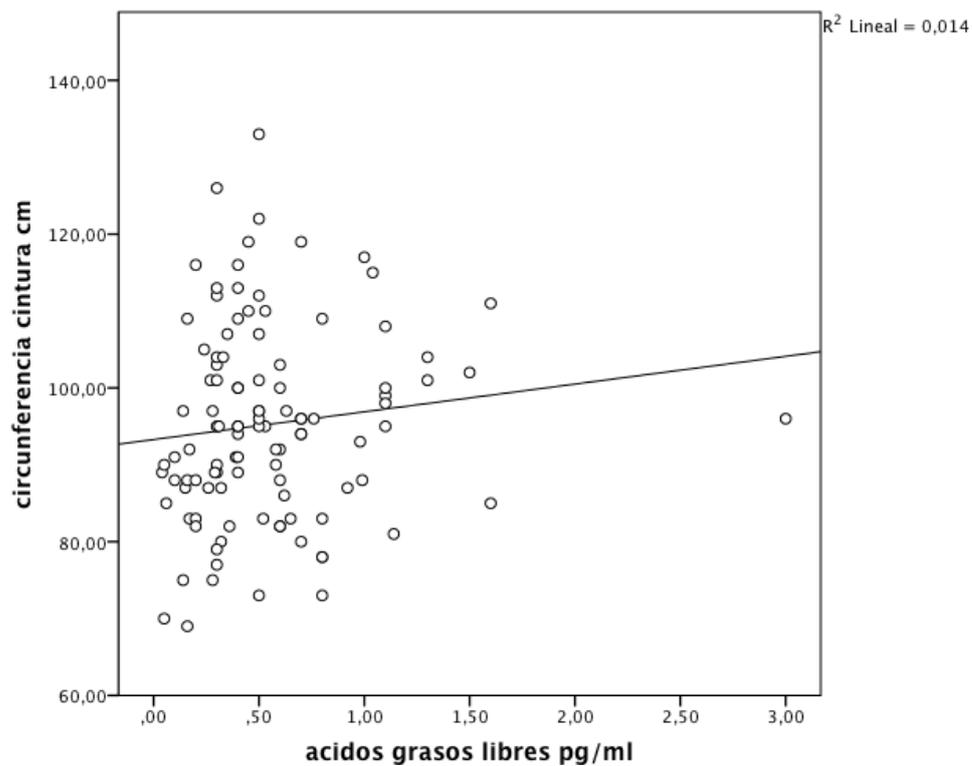


Figura 37. Correlación entre la Circunferencia de Cintura y las concentraciones de Ácidos Grasos Libres



### 6.8.3 Correlación entre las concentraciones de insulina, los índices HOMA y los ácidos grasos libres

Cuando se realizaron las correlaciones entre la insulina (Pearson=0.019), el HOMA\_IR (Pearson=0.62), el HOMA\_B (Pearson=-0.58) y las concentraciones de AGL, no se encontraron correlaciones significativas, en ninguna de estas correlaciones ( $p > 0.05$ , Figuras 38, 39 y 40)

Figura 38. Correlación entre las concentraciones de Ácidos Grasos Libres y de Insulina

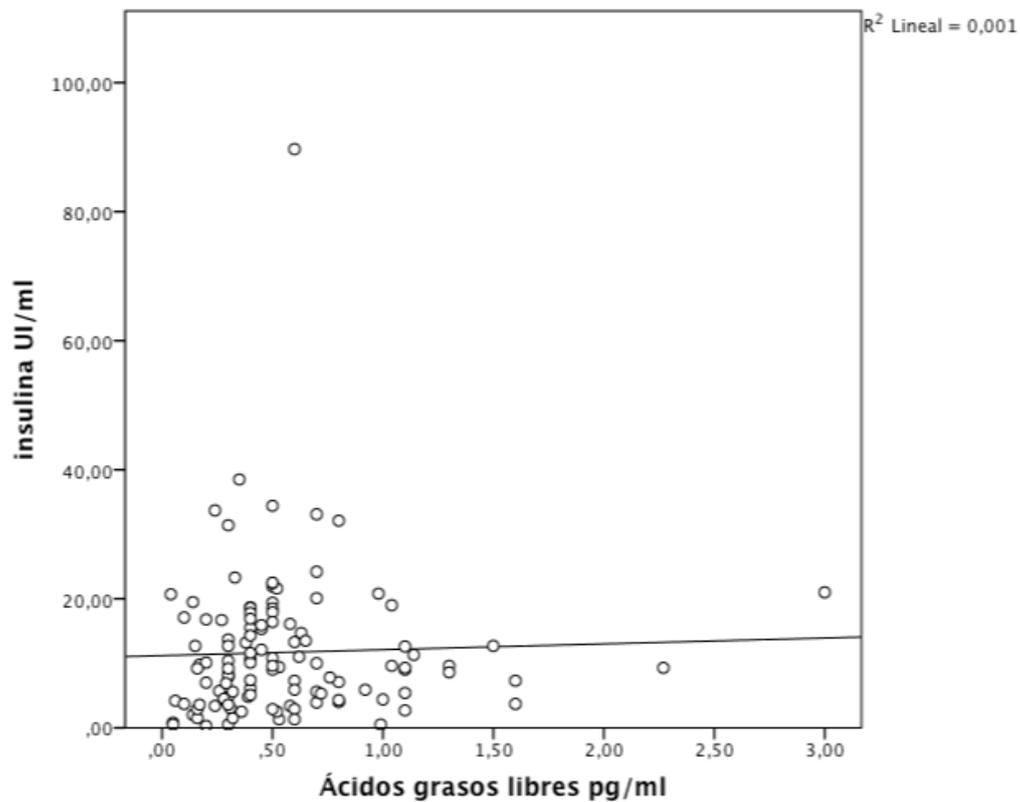


Figura 39. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y el HOMA\_IR

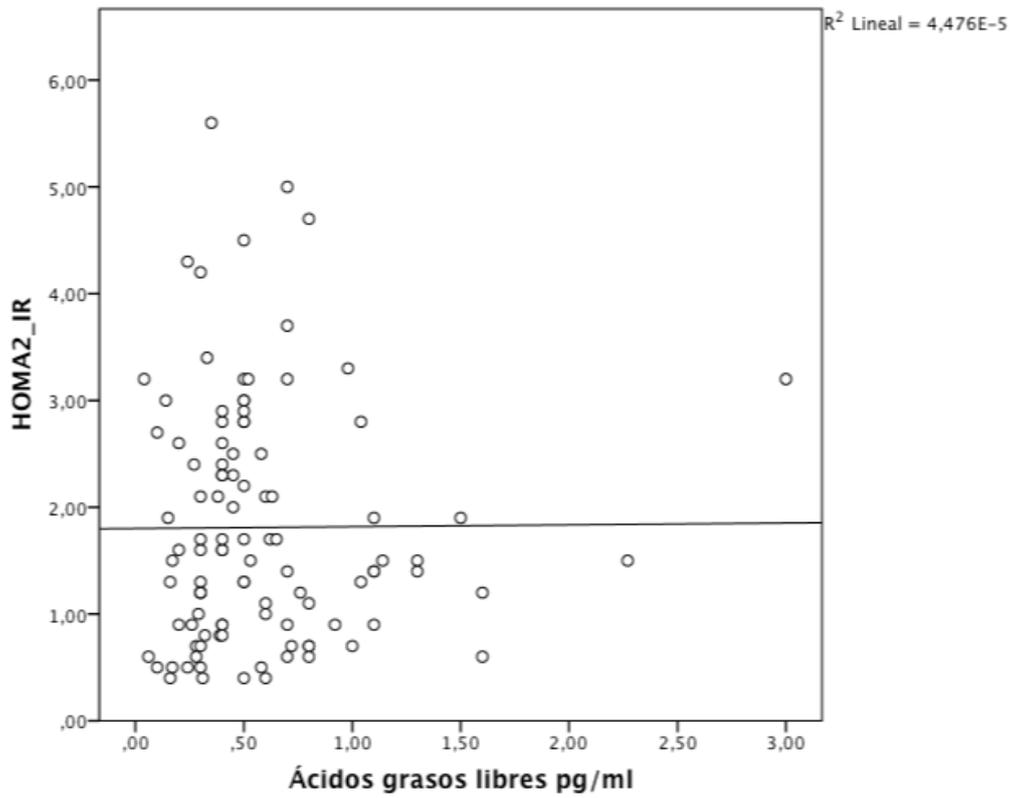
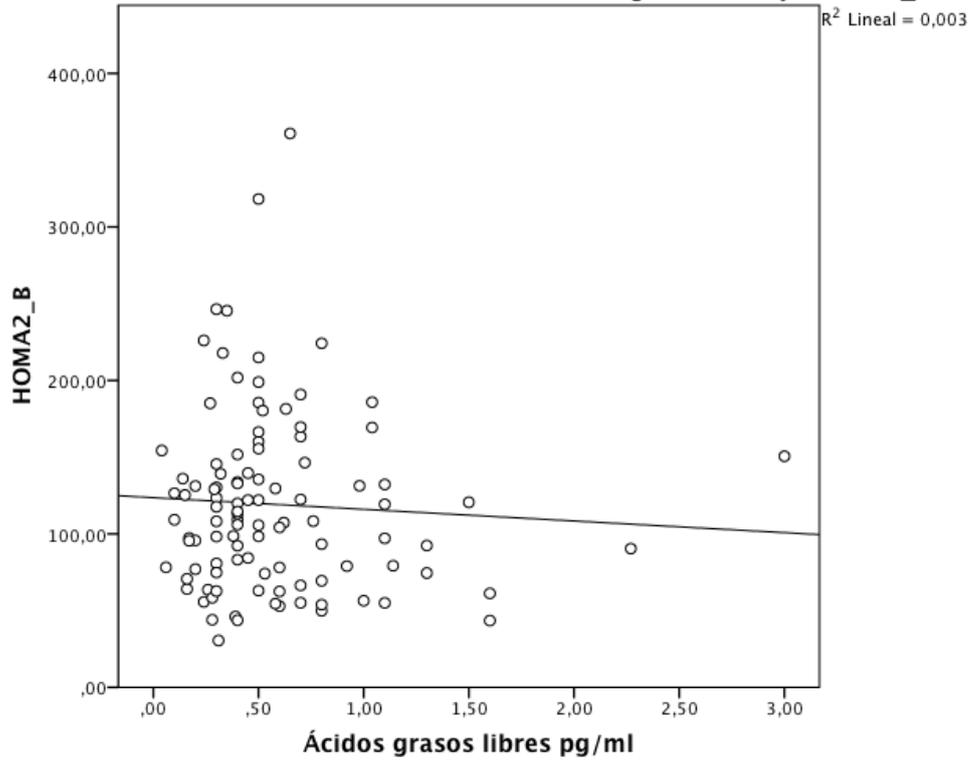


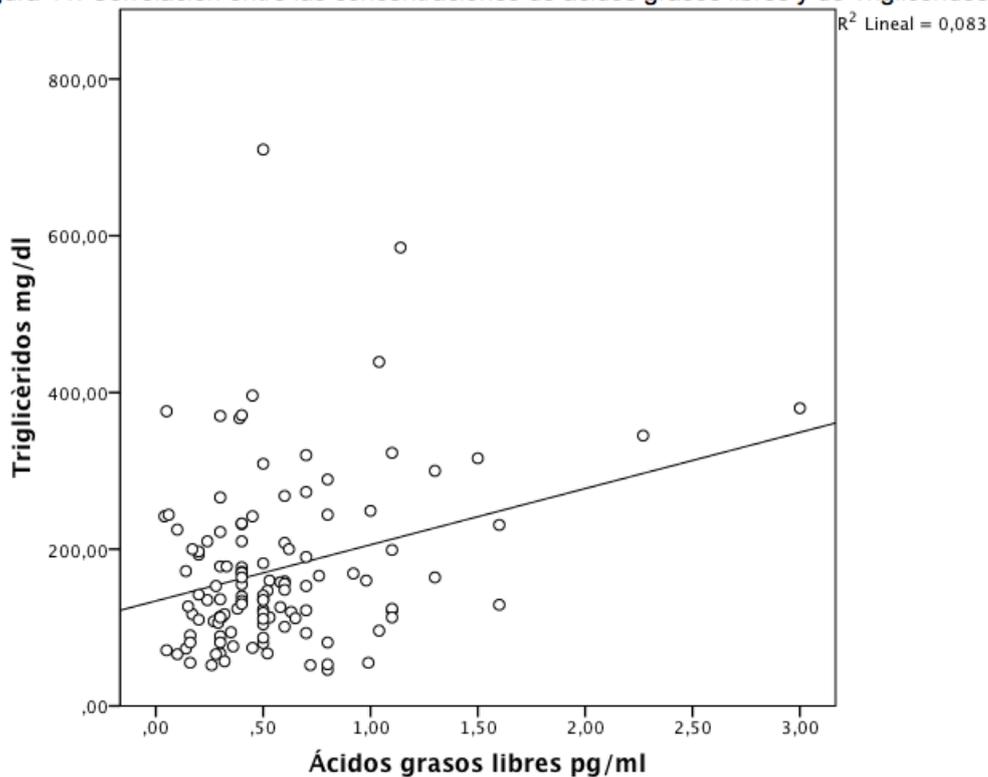
Figura 40. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y el HOMA\_B



#### 6.8.4 Correlación entre las concentraciones de triglicéridos y las concentraciones de ácidos grasos libres

Sin embargo, si se observó una correlación significativa (Pearson=0.288,  $p < 0.01$ , Figura 41) entre las concentraciones de ácidos grasos libres y las de triglicéridos, esto está acorde con lo que previamente se discutió sobre el hecho de que la fuente principal de ácidos grasos libres durante el ayuno son los triglicéridos circulantes.

Figura 41. Correlación entre las concentraciones de ácidos grasos libres y de Triglicéridos

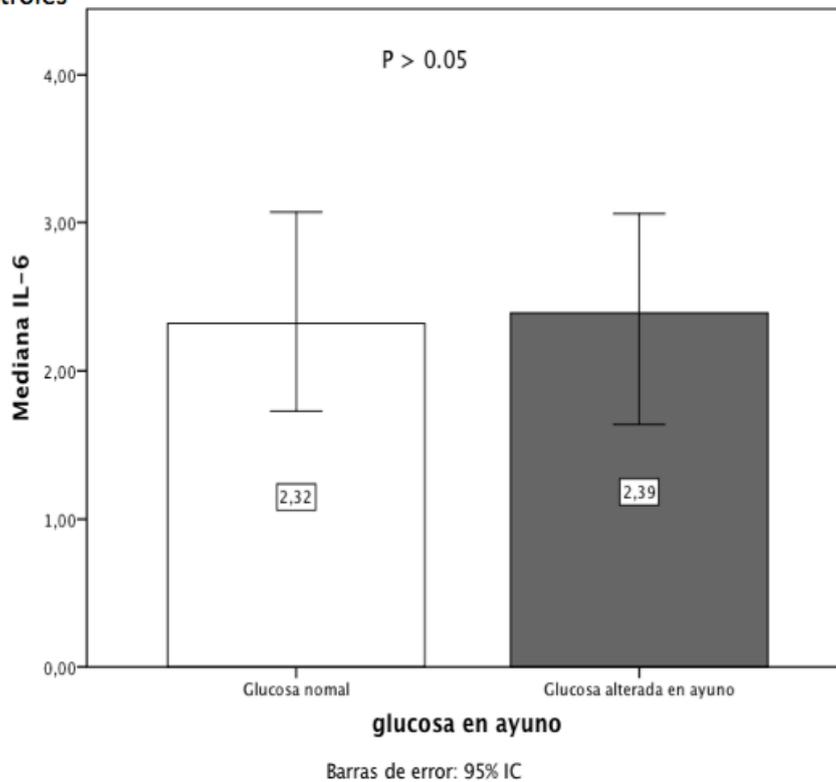


#### 6.9. Análisis de Interleucina 6

Como se muestra en la Figura 42, las concentraciones de IL6 entre los casos y los controles de toda la población de estudio, no mostraron diferencias

significativas entre los grupos de controles y GAA, mediana 2.32 vs 2.39 pg/ml,  $p > 0.05$ .

Figura 42. Comparación de las concentraciones de Interleucina 6 entre los casos y los controles



### 6.9.1 Correlaciones entre las concentraciones de Interleucina 6 y las variables antropométricas índice de masa corporal y circunferencia de cintura

Al realizar las correlaciones correspondientes entre el IMC, la circunferencia de cintura y las concentraciones de IL6, se encontró una correlación significativa con el IMC, aunque con un coeficiente de Pearson bajo (Pearson=0.165,  $p < 0.05$ , Figura 43); no se encontró correlación entre las concentraciones de IL6 y la circunferencia de cintura (Pearson=0.146,  $p > 0.05$ , Figura 44)

Figura 43. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice de Masa Corporal

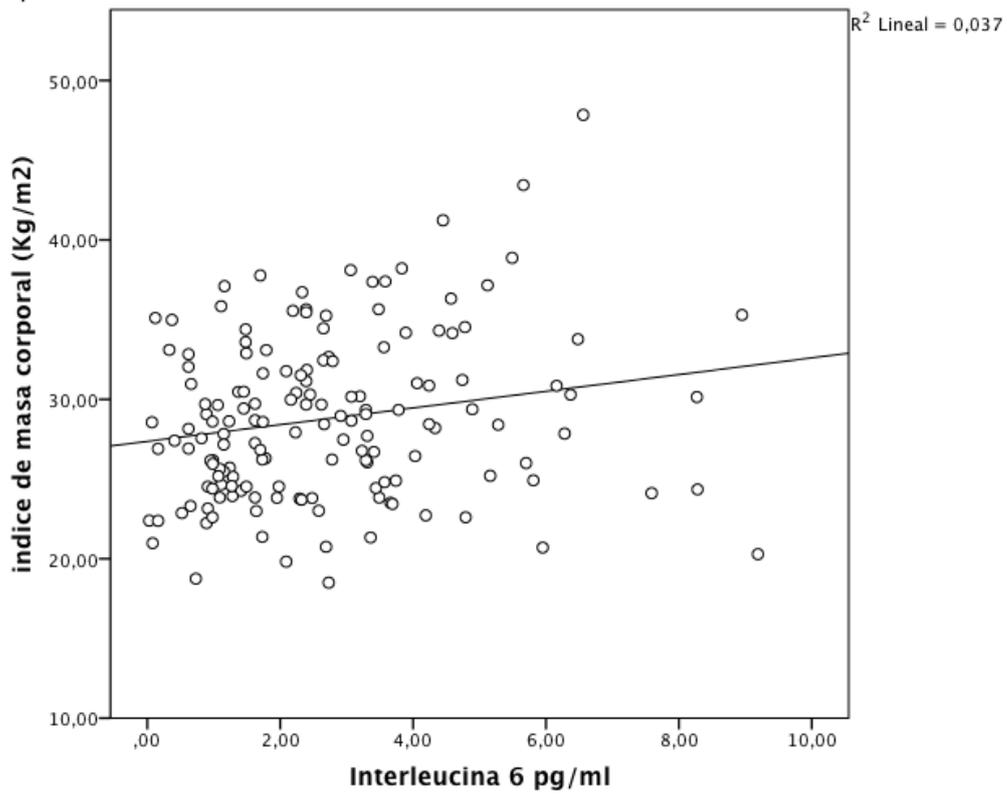
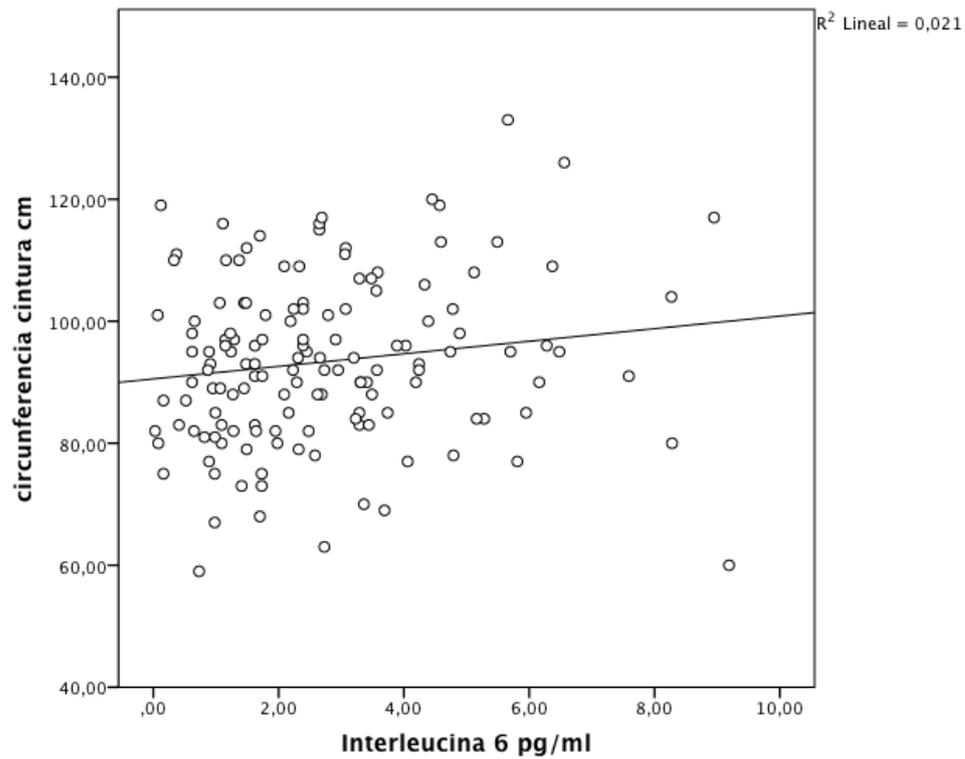


Figura 44. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el la circunferencia de cintura



### 6.9.2 Correlaciones entre las concentraciones de Interleucina 6 y las concentraciones de insulina y los índices de HOMA

Las correlaciones correspondientes entre las concentraciones de interleucina 6, los índices de HOMA y las concentraciones de insulina, se muestran en las Figuras 45, 46 y 47, respectivamente. Se encontraron correlaciones significativas entre las concentraciones de insulina y de IL6 (Pearson = 0.163,  $p < 0.05$ ), así como también con el índice de HOMA\_IR (Pearson = 0.205,  $p < 0.05$ ), ambas con coeficientes de correlación bajos. No se encontraron correlaciones significativas entre las concentraciones de IL6 y el índice HOMA\_B (Pearson=0.015,  $p > 0.05$ ).

Figura 45. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y las de insulina

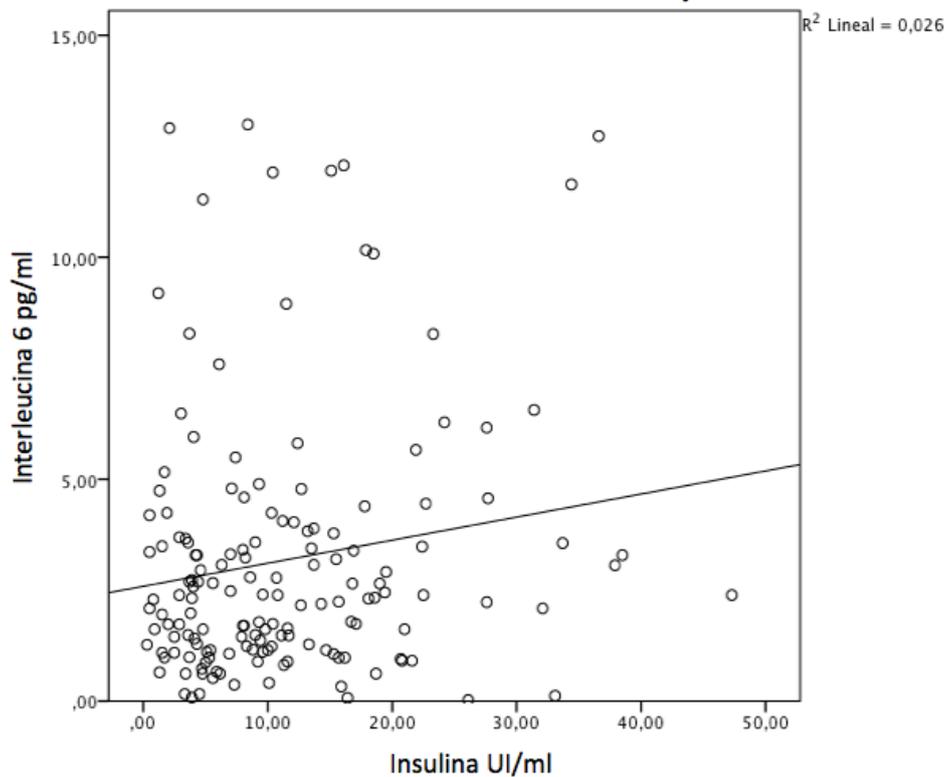


Figura 46. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice HOMA\_IR

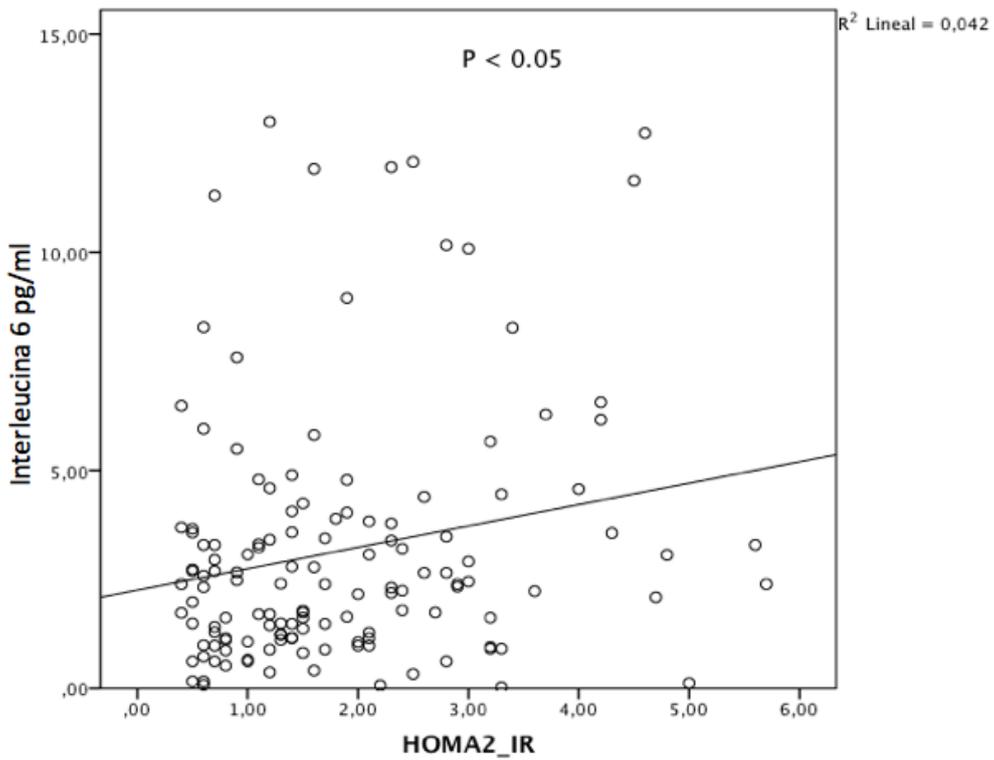
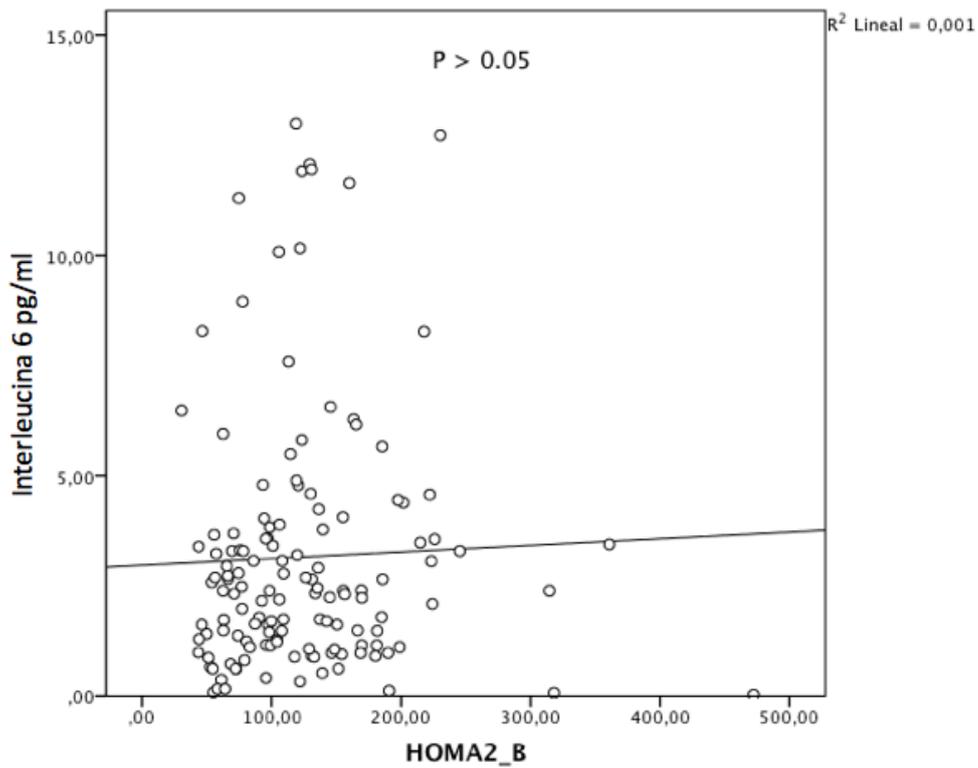


Figura 47. Correlación entre las concentraciones de Interleucina 6 y el índice HOMA\_B



## 7. DISCUSION

Desde hace 3 décadas se ha observado un incremento continuo en la incidencia de la DMT2 en todo el mundo. Con base en los datos reportados en nuestro país por la Encuesta Nacional de Salud, se observó del 2006 al 2012 un incremento del 50% en la prevalencia de la DMT2. Por lo tanto es indispensable establecer estrategias de prevención para disminuir el número de casos nuevos de DMT2 y de esta manera frenar el avance de esta enfermedad en nuestro país. Entre las estrategias para prevenir el desarrollo de la DMT2, de manera importante es necesario identificar a los sujetos en riesgo, para que la identificación de los sujetos en riesgo sea útil, es necesario diseñar estrategias que utilicen métodos disponibles en todos los niveles de atención clínica. Entre los grupos de riesgo ya identificados se encuentran los sujetos con GAA, estos sujetos presentan alteraciones tempranas en el metabolismo de la glucosa, por lo que su caracterización potencialmente podría permitir establecer medidas preventivas.

El paradigma actual en el desarrollo de la DMT2, tiene como base la resistencia a la insulina, en la cual los tejidos sensibles a la acción de esta hormona, principalmente el músculo, el tejido adiposo y el hígado, presentan una disminución en la respuesta fisiológica a la insulina. Esta disminución en la respuesta a la insulina se manifiesta principalmente por un menor consumo de glucosa por el músculo y el tejido adiposo y una falta de supresión en la producción hepática de glucosa. La respuesta compensatoria para esta disminución en la respuesta a la insulina por parte del páncreas, es un incremento en la función de las células beta para aumentar la producción de insulina y así mantener las concentraciones plasmáticas de glucosa dentro de niveles normales (**Cavaghan Melissa K y cols, 2000**) Sin embargo, el incremento continuo en la funcionalidad de la célula beta, conlleva a la disfunción y finalmente insuficiencia de la célula beta, ocasionando la disminución en la producción de insulina, lo que conlleva al incremento progresivo de las concentraciones plasmáticas de glucosa, hasta que se presenta la DMT2.

Este modelo en el desarrollo de la DMT2 se ha demostrado en personas con obesidad (**Sydney A. Westphal y cols, 2008**), sin embargo, no se ha validado en persona con otras categorías de IMC, como son el sobrepeso o peso normal, en quienes la participación de la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta no han sido suficientemente caracterizadas. Esta caracterización potencialmente podría permitir desarrollar herramientas de detección en estos sujetos en riesgo de desarrollar diabetes.

Con la finalidad de evaluar la interacción entre la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta, se diseñó un estudio transversal que incluyó a sujetos con GAA y un grupo control con glucosa normal en las tres categorías del IMC, peso normal, sobrepeso y obesidad, evaluando la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta mediante el índice HOMA\_IR y HOMA\_B, respectivamente y así realizar las comparaciones correspondientes.

Al evaluar a todos los sujetos incluidos en el estudio estudio, se encontró que tanto las concentraciones de insulina y el HOMA\_IR se encuentran significativamente elevadas en los sujetos con GAA, en comparación con los sujetos control con glucosa normal. Por el contrario se encontró una disminución significativa en el HOMA\_B en los sujetos con GAA, lo cual refleja una falta de capacidad para incrementar la respuesta de la célula beta pancreática en este grupo de sujetos.

De acuerdo con lo reportado en otros estudios, se encontró una correlación significativa entre la resistencia a la insulina y el IMC y la circunferencia de cintura. (**Kahn Barbara B y cols, 2000**) Esto nos indica que el incremento en el peso, sobre todo la obesidad abdominal, es uno de los principales factores para desarrollar resistencia a la insulina, sin embargo, debido a que la GAA se ha encontrado en sujetos sin obesidad, la funcionalidad de la célula beta en estos sujetos debe ser diferente a la de los sujetos obesos.

Al dividir a los sujetos del estudio por su IMC se encontraron diferentes interacciones entre la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula

beta. En los sujetos con obesidad se aprecia un incremento en la funcionalidad de la célula beta con hiperinsulinemia en ambos grupos. Sin embargo, observamos que este incremento es menor en los sujetos con GAA, por lo tanto, es cuando se presenta disminución en la capacidad de respuesta de la célula beta cuando se incrementan las concentraciones de glucosa, de acuerdo con el paradigma aceptado. Por otra parte en los sujetos con sobrepeso, a diferencia de lo encontrado en los sujetos con obesidad, el incremento en la resistencia a la insulina no fue significativo, por lo que la elevación en las concentraciones de glucosa parece ser ocasionada por una incapacidad de la funcionalidad de la célula beta pancreática para incrementar su función para compensar la resistencia a la insulina. Finalmente en los sujetos con peso normal se encontró como alteración principal, una disminución de la funcionalidad de la célula beta pancreática, sugiriendo que en estos sujetos existe un defecto intrínseco que ocasiona disminución de la función de estas células. En conjunto nuestros resultados muestran que la DMT2 puede desarrollarse con distintos niveles de resistencia a la insulina o sin la presencia de esta. Por lo tanto, para la adecuada identificación de los sujetos en riesgo es más importante tomar en cuenta la relación que existe entre la función pancreática y la resistencia a la insulina, más que estos valores por separado. Esto se corroboró al realizar el análisis de los índices HOMA mediante las curvas ROC, si bien puede establecerse un punto de corte para las concentraciones de insulina y el HOMA\_IR a partir del cual un sujeto podría considerarse con un incremento en el riesgo, la sensibilidad de estas variables es baja, 60y 63% respectivamente. Al utilizar alguno de estos valores, se excluiría a s sujetos cuya alteración principal se encuentra en la funcionalidad de la célula beta, como son los sujetos con peso normal o sobrepeso. Esta misma situación se presenta con el valor del HOMA\_B. De tal manera que para poder evaluar a un sujeto adecuadamente debe tomarse en cuenta tanto el valor de HOMA\_B como del HOMA\_IR. El método que proponemos para adecuadamente evaluar la interacción entre estos dos factores es la construcción de un índice que denominamos  $HOMA_{IR/B}$ . Al evaluar este índice mediante la curva ROC se aprecia una sensibilidad y una especificidad significativamente más altas cuando se compara con el HOMA\_IR y el

HOMA<sub>B</sub> utilizados de manera individual. El punto de corte con la mayor sensibilidad y especificidad para este índice propuesto fue de 1.35, por arriba de este valor de HOMA<sub>IR/B</sub>, se encuentra el 90% de los sujetos con GAA:

Es necesario evaluar la utilidad de este índice de manera prospectiva, mediante un estudio de cohorte, para determinar si sujetos con glucosa normal, pero con valor del índice HOMA<sub>IR/B</sub> cercano a 1.35, se encuentran mayor riesgo de desarrollar DMT2.

Los AGL se han implicado en la patogénesis de la DMT2, a través de observaciones experimentales tanto en modelos *in vitro* como en modelos animales (**Holland William y cols, 2011**) que han demostrado su capacidad para inhibir el consumo de glucosa por el músculo (**Dresner Alan y cols, 1999**). Además también algunos hallazgos epidemiológicos han mostrado un incremento en el riesgo de desarrollar DMT2 en individuos que presentan concentraciones elevadas de AGL (**Boden Guenther y cols, 2008**). Sin embargo, estos hallazgos no son consistentes en distintos estudios (**Frohnert Brigitte I y cols, 2013**) (**Karpe Fredrik y cols, 2011**), por lo que en nuestro estudio se decidió realizar la caracterización de las concentraciones de AGL en los sujetos con GAA y compararlos con sujetos control. Al realizar el análisis en toda la población de estudio, se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de AGL entre el grupo de sujetos con GAA y el grupo control. Sin embargo, al realizar el análisis por las distintas categorías del IMC, estas diferencias solo se mantuvieron para el grupo de sujetos con peso normal. Al realizar las correlaciones entre las variables antropométricas IMC y cintura de cadera no se encontraron correlaciones significativas con los AGL. Con respecto a las correlaciones entre los índices HOMA, las concentraciones de insulina y las concentraciones de AGL, no se encontraron correlaciones significativas. Puesto que en el ayuno la principal fuente de AGL son los TGC plasmáticos (**Jacome-Sosa y cols, 2014**), se decidió realizar una correlación entre los AGL y los TGC, se encontró una correlación significativa entre las concentraciones de AGL y de TGC. Estos hallazgos sugieren que las concentraciones de AGL están relacionadas con la hipertrigliceridemia y no con

la obesidad y la resistencia a la insulina. Debido a que la hipertrigliceridemia es frecuente en la resistencia a la insulina, puede tratarse de un factor de confusión. Así es que en nuestro estudio no se encontró evidencia de causalidad por parte de los AGL en la resistencia a la insulina.

Se ha descrito que diversas citosinas tiene asociación con la resistencia a la insulina y por lo tanto con el desarrollo de DMT2. Entre estas citosinas la IL1 $\beta$  y el TNF $\alpha$  son las que cuentan con mayor evidencia, la IL6 por otra parte tiene observaciones más controversiales (**Kristiansen Ole P y cols, 2005**) (**Allen T. L y cols, 2010**) puesto que algunos estudios la asocian con la resistencia a la insulina (**Bastard Jean-Philippe y cols, 2002**) (**Pedersen Bente K y cols, 2007**) y en otros no se encuentra asociación. (**Glund Stephan y cols, 2007**) (**Carey Andrew L y cols, 2006**). Por lo tanto en el presente trabajo decidimos evaluar la correlación entre la IL6 y los parámetros antropométricos de la población en estudio, así como su correlación con las concentraciones de insulina y los índices HOMA. Al comparar las concentraciones de IL6 en toda la población de estudio no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de IL6 entre el grupo con GAA y el grupo control. Se observaron correlaciones significativas entre el IMC, la resistencia a la insulina y las concentraciones de IL6. Sin embargo, si bien la correlación encontrada tiene significancia estadística, el coeficiente de correlación es bajo, por lo que esta correlación es débil y es posible que se encuentren implicados otros factores con mayor participación en la resistencia a la insulina. Así es que si bien se encontró una correlación entre la resistencia a la insulina y las concentraciones de IL6, esta no apoya un efecto de causa efecto.

## **8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

En el presente estudio demostramos que la patogénesis de la DMT2 es heterogénea en relación con la categoría del IMC en la cual se desarrolla, con distintos niveles de resistencia a la insulina, o incluso sin la presencia de esta, dependiendo de la capacidad de compensación por la célula beta pancreática.

Con base en estas observaciones se propuso un índice, al cual denominamos  $HOMA_{IR/B}$ , que se calcula a partir de herramientas disponibles, los índices de HOMA, para medir la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta. Este índice demostró discriminar de manera adecuada entre los sujetos con GAA y sujetos control, con una sensibilidad y especificidad más alta comparada con el  $HOMA_{IR}$  y el  $HOMA_B$  utilizados de manera individual, del 91% y 79%, respectivamente. Para evaluar la utilidad del índice para identificar sujetos con glucosa normal y con riesgo de desarrollar DMT2 se requiere su evaluación en forma prospectiva.

## 9. Bibliografía

Admiraal, F. Holleman, M.B. Snijder. Ethnic disparities in the association of impaired fasting glucose with the 10-year cumulative incidence of type 2 diabetes. *Diab Res Clin Prac* 103 (2014) 127–132

Allen T. L., M. A. Febbraio. IL6 as a mediator of insulin resistance: fat or fiction?. *Diabetologia* (2010) 53:399–402

Amati F. Revisiting the diacylglycerol-induced insulin resistance hipotesis. *obesity reviews* (2012) 13 (Suppl. 2), 40–50.

Antuna-Puente B., E. Disse, R. Rabasa-Lhoret, et al. How can we measure insulina sensitivity/resistance?. *Diabetes & Metabolism* 37 (2011) 179–188

Aye Irving L.M.H., Thomas Jansson, Theresa L. Powell. Interleukin-1b inhibits insulin signaling and prevents insulin-stimulated system A amino acid transport in primary human trophoblasts. *Molecular and Cellular Endocrinology* 381 (2013) 46–55

Barlow Jonathan, Charles Affourtit. Novel insights into pancreatic  $\beta$ -cell glucolipototoxicity from real-time functional analysis of mitochondrial energy metabolism in INS-1E insulinoma cells. *Biochem. J.* (2013) 456, 417–426

Bastard Jean-Philippe, Mustapha Maachi, Jeanne Tran Van Nhieu. Adipose Tissue IL-6 Content Correlates with Resistance to Insulin Activation of Glucose Uptake both in Vivo and in Vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2084–2089, 2002

Bloomgarden Zachary T. Insulin Resistance Concepts. *DIABETES CARE*, VOLUME 30, NUMBER 5, MAY 2007

Boden Guenther. Obesity and Free Fatty Acids. *Endocrinol Metab Clin N Am* 37 (2008) 635–646

Boitard Christian, Accili Domenico, Ahrén Bo, et al. *Diab Obes Metab* 14 (suppl, 3) iv-ivv, 2012

Boura-Halfon Sigalit, Yehiel Zick. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296: E581–E591, 2009.

Carey Andrew L., Gregory R. Steinberg, S. Lance Macaulay, et al. Interleukin-6 Increases Insulin-Stimulated Glucose Disposal in Humans and Glucose Uptake and Fatty Acid Oxidation In Vitro via AMP-Activated Protein Kinase. *Diabetes* 55:2688–2697, 2006

Cavaghan Melissa K., David A. Ehrmann, Kenneth S. Polonsky. Interactions between insulin resistance and insulin secretion in the development of glucose intolerante. *J Clin Invest* 2000;106(3):329.333

Cefalu William T. Diabetic dyslipidemia and the metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* (2008) 2, 208—222

Copps K. D., M. F. White. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia* (2012) 55:2565–2582

Cruz Nathália G., Lirlandia P. Sousa, Marinez O. Sousa. The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pratices*. 99 (2013)85–92

Czech M. P., M. Tencerova, D. J. Pedersen, M. Aouadi. Insulin signalling mechanisms for triacylglycerol storage. *Diabetologia* (2013) 56:949–964

Dimitriadis George, Panayota Mitrou, Vaia Lambadiari. Insulin effects in muscle and adipose tissue. *DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE* 93S(2011)S52–S59

Dresner Alan, Didier Laurent, Melissa Marcucci. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.* 103:253–259 (1999)

Eizirik D. L., M. Miani, A. K. Cardozo. Signalling danger: endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in pancreatic islet inflammation. *Diabetologia* (2013) 56:234–241

Febbraio Mark A., Natalie Hiscock, Massimo Sacchetti, et al. Interleukin-6 Is a Novel Factor Mediating Glucose Homeostasis During Skeletal Muscle Contraction. *Diabetes* 53:1643–1648, 2004

Ferrannini E., M. Massari, M. Nannipieri, A. Natali, et al. Plasma glucose levels as predictors of diabetes: the Mexico City diabetes study. *Diabetologia* (2009) 52:818–824

Frohnert Brigitte I., David R. Jacobs Jr., Julia Steinberger, et al. Relation Between Serum Free Fatty Acids and Adiposity, Insulin Resistance, and Cardiovascular Risk Factors From Adolescence to Adulthood. *Diabetes* 62:3163–3169, 2013

Greenberg A. S., M. L. McDaniel. Identifying the links between obesity, insulin resistance and  $\beta$ -cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2002; 32 (Suppl. 3): 24–34

Glund Stephan, Atul Deshmukh, Yun Chau Long, et. al. Interleukin-6 Directly Increases Glucose Metabolism in Resting Human Skeletal Muscle. *Diabetes* 56:1630–1637, 2007

Hayden Matthew S., Sankar Ghosh. Shared Principles in NF- $\kappa$ B Signaling. *Cell* 132, February 8, 2008

Holland William L., Benjamin T. Bikman, Li-Ping Wang. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1858–1870

Inzucchi, Silvio E., Richard M. Bergenstal, John B. Buse, Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered Approach. *Diabetes Care* Volume 38, January 2015

Itani Samar I., Neil B. Ruderman, Frank Schmieder. Lipid-Induced Insulin Resistance in Human Muscle Is Associated With Changes in Diacylglycerol, Protein Kinase C, and I $\kappa$ B- $\alpha$ . *Diabetes* 51:2005–2011, 2002

Jacome-Sosa M. Miriam, Elizabeth J. Parks. Fatty acid sources and their fluxes as they contribute to plasma triglyceride concentrations and fatty liver in humans. *Curr Opin Lipidol* 2014, 25:213 – 220

Jocken Johan W. E., Gijs H. Goossens, Hanneke Boon, et al. Insulin-mediated suppression of lipolysis in adipose tissue and skeletal muscle of obese type 2 diabetic men and men with normal glucose tolerance. *Diabetologia* (2013) 56:2255–2265

Kahn Barbara B., Jeffrey S. Flier. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106(4):473-471

Karim Md N., Kazi R. Ahmed, Mohammad S. Bukht. Pattern and predictors of dyslipidemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 7 (2013) 95–100

Karpe Fredrik, Julian R. Dickmann, Keith N. Frayn. Fatty Acids, Obesity, and Insulin Resistance: Time for a Reevaluation. *Diabetes* 60;2441-2449. 2011

Kasuga Masato. Insulin resistance and pancreatic  $\beta$  cell failure. *J. Clin. Invest.* 116:1756–1760 (2006)

Koutsari Christina, Michael D. Jensen. Free fatty acid metabolism in human obesity. *J. Lipid Res.* 2006. 47: 1643–1650.

Kraakman M. J., T. L. Allen, M. Whitham, et al. Targeting gp130 to prevent inflammation and promote insulin action. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 15 (Suppl. 3): 170–175, 2013.

Krebs M., M. Roden. Molecular mechanisms of lipid-induced insulin resistance in muscle, liver and vasculature. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7, 2005, 621–632

Kristiansen Ole P., Thomas Mandrup-Poulsen. Interleukin-6 and Diabetes The Good, the Bad, or the Indifferent?. *Diabetes* 54(Suppl. 2):S114–S124, 2005

Krook A. IL-6 and metabolism—new evidence and new questions. *Diabetologia* (2008) 51:1097–1099

Leiva E., V. Mujica, R. Orrego. Subjects with Impaired Fasting Glucose: Evolution in a Period of 6 Years. *J Diab Res Vol* (2014) 1-5

Lumeng Carey. N., Alan R. Saltiel. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2111–2117.

Ma Kuifen, Xi Jin, Xingguang Liang. Inflammatory mediators involved in the progression of the metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev* 2012; 28: 388–394.

Marette A. Molecular mechanisms of inflammation in obesity-linked insulin resistance. *International Journal of Obesity* (2003) 27, S46–S48

Medina-Urrutia Aida, Carlos Posadas-Romero, Rosalinda Posadas-Sánchez. Role of adiponectin and free fatty acids on the association between abdominal visceral fat and insulin resistance. *Cardiovascular Diabetology* (2015) 14:20

Nathan David M, Margaret Bayless, Patricia Cleary, et al. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Advances and Contributions. *Diabetes* 62;3976-3986. 2013

Nimmo M. A., M. Leggate, J. L. Viana, J. A. King. The effect of physical activity on mediators of inflammation. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 15 (Suppl. 3): 51–60, 2013.

Nolan J. J., K. Færch. Estimating insulin sensitivity and beta cell function: perspectives from the modern pandemics of obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* (2012) 55:2863–2867

Olokoba Abdulfatai B., Olusegun A. Obateru. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal* (2012) Vol. 27, No. 4: 269-273

Paulweber B., P. Valensi, J. Lindström, et al. A European Evidence-Based Guideline for the Prevention of Type 2 Diabetes. *Horm Metab Res* 2010; 42 (Suppl. 1): S3–S36

Pedersen Bente K., Mark A. Febbraio. Interleukin-6 does/does not have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *J Appl Physiol* 102: 814–819, 2007

Rhodes C. J., M. F. White. Molecular insights into insulin action and secretion. *European Journal of Clinical Investigation* (2002) 32 (Suppl. 3), 3 – 13

Rindler Paul M., Clair L. Crewe, Jolyn Fernandes. Redox regulation of insulin sensitivity due to enhanced fatty acid utilization in the mitochondria. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305: H634–H643, 2013.

Rosen Ora M. After Insulin Binds. *SCIENCE*, VOL. 237, 1452-1458

Saltiel Alan R. New Perspectives into the Molecular Pathogenesis and Treatment of Type 2 Diabetes. *Cell*, Vol. 104, 517–529, February 23, 2001

Samuel Varman T, Kitt Falk Petersen, Gerald I Shulman. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet* 2010; 375: 2267–77

Scheller Jürgen, Athena Chalaris, Dirk Schmidt-Arras. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta* 1813 (2011) 878–888

Seino Susumu, Tadao Shibasaki, Kohtaro Minami. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2118–2125.

Serra Dolors, Paula Mera, Maria Ida Malandrino, et al. Mitochondrial Fatty Acid Oxidation in Obesity. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 269–284. 2013

Shoelson Steven E., Jongsoo Lee, Allison B. Goldfine. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 116:1793–1801 (2006).

Solinas Giovanni, and Michael Karin. JNK1 and IKK : molecular links between obesity and metabolic dysfunction. *FASEB J.* 24, 2596 –2611 (2010)

Steensberg Adam, Christian P. Fischer, Massimo Sacchetti, et al. Acute interleukin-6 administration does not impair muscle glucose uptake or whole-body glucose disposal in healthy humans. *J Physiol* (2003), 548.2, pp. 631–638

Sydney A. Westphal. Obesity, Abdominal Obesity, and Insulin Resistance. *Clinical Cornerstone.* 2008;9[1]:23–31

Thorens B. The required beta cell research for improving treatment of type 2 diabetes. *J Intern Med* 2013; 274: 203– 214.

Van de Woestijne A. P., H. Monajemi, E. Kalkhoven, et al. Adipose tissue dysfunction and hypertriglyceridemia: mechanisms and Management. *obesity reviews* (2011) 12, 829–840

Van Raalte Daniel H., Michaela Diamant. Glucolipotoxicity and beta cells in type 2 diabetes mellitus: Target for durable therapy?. *Diabetes Res Clin Pract.* 93S(2011)S37–S46

Wallace T. M, D. R. Matthews. The assessment of insulin resistance in man. *Diabet. Med.* 19, 527–534 (2002)

Wallace Tara M., Jonathan C. Levy, David R. Matthews. Use and Abuse of HOMA Modeling. *Diabetes Care* 27:1487–1495, 2004

Walsh Jennifer M., Ciara A. McGowan, Jacinta A. Byrne. The association between TNF- $\alpha$  and insulin resistance in euglycemic women. *Cytokine* 64 (2013) 208–212

Weigert Cora, Anita M. Hennige, Rainer Lehmann. Direct Cross-talk of Interleukin-6 and Insulin Signal Transduction via Insulin Receptor Substrate-1 in Skeletal Muscle Cells. *J. Biol. Chem.* 2006, 281:7060-7067.

White, Morris F. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E413–E422, 2002

White M.F. The insulin signalling system and the IRS proteins. *Diabetologia* (1997) 40: S 2–S 17

White Morris F. Insulin Signaling in Health and Disease. *Science* 302, 1710 (2003)

Zick Y. Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. *Int J Obes* (2003) 27, S56–S60