



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO**
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA



TESIS

**VALORACIÓN DEL EFECTO ELECTROFISIOLÓGICO EN PACIENTES CON
POLINEUROPATÍA DIABÉTICA TRATADOS CON PIROFOSFATO DE TIAMINA**

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

PRESENTA:
L.N. ITZELLY IBARRA VALDOVINOS

DIRIGIDO POR:
DR. HEBERT LUIS HERNÁNDEZ MONTIEL

SANTIAGO DE QUERÉTARO, MÉXICO
OCTUBRE, 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

VALORACIÓN DEL EFECTO ELECTROFISIOLÓGICO EN PACIENTES CON
POLINEUROPATÍA DIABÉTICA TRATADOS CON PIROFOSFATO DE TIAMINA

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestría en Ciencias en Biomedicina

Presenta:

LN. Itzelly Ibarra Valdovinos

Dirigido por:

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel
Presidente

Dra. Nancy Georgina Hernández Chan
Secretario

Dra. Ma. Elena Villagrán Herrera
Vocal

Dr. Nicolás Camacho Calderón
Suplente

Dra. Adriana Jheny Rodríguez Méndez
Suplente

Dr. Javier Avila Morales
Director de la Facultad Medicina, UAQ

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado, UAQ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, MÉXICO
OCTUBRE, 2017

RESUMEN

Introducción. La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es uno de los padecimientos con mayor prevalencia en población mexicana y presenta múltiples complicaciones microvasculares que incluyen a la polineuropatía diabética (PND). Actualmente, el manejo clínico de la PND se enfoca al control adecuado de la glucosa y al alivio de los síntomas. El presente estudio aborda el uso terapéutico del pirofosfato de tiamina (PPT), el cual pertenece a un grupo de potentes agentes terapéuticos que activan a la enzima transcetolasa. Esta enzima tiene importancia en la patogenia de la DM2 pues disminuye la activación de las rutas metabólicas asociadas al daño por microangiopatía diabética. El establecimiento de nuevas terapias que induzcan la activación de esta enzima podrían disminuir el desarrollo de alteraciones como la PND. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del PPT sobre la velocidad de conducción nerviosa (VCN) en miembros inferiores y el estado antioxidante de pacientes con PND. **Material y métodos.** El presente estudio fue un estudio clínico de intervención, controlado, pre-test/post-test, en el cual se incluyeron pacientes con PND de miembros inferiores, determinado clínicamente por el Test de Michigan. Se asignaron dos grupos de estudio de acuerdo al tiempo de diagnóstico de la DM2: **Grupo I** pacientes con 1 a 10 años y el **Grupo II**, de 11 a 20 años. Ambos grupos recibieron tratamiento con PPT (1 mg/kg peso), por vía intramuscular una vez por semana, durante 3 meses. Se analizaron los parámetros electrofisiológicos (latencia, duración, amplitud y velocidad de conducción) de los nervios peroneo profundo y sural de ambos miembros inferiores. Además, se determinaron parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, etc.) y se determinó la actividad de la enzima antioxidante endógena superóxido dismutasa (SOD), previo al inicio del tratamiento y a los 3 meses. **Resultados.** Al final de los 3 meses de tratamiento, el Grupo I presentó una mejoría significativa en la VCN en el nervio sural del lado derecho ($p < 0.0078^{**}$) y para el Grupo II, mejoró en lado izquierdo ($p < 0.0495^{*}$). Respecto al nervio peroneo, para el Grupo I, se tuvo también mejoría significativa en la VCN en el lado izquierdo ($p < 0.0019^{**}$) y para el Grupo II, se mejoró en el lado izquierdo ($p < 0.0039^{**}$). Para el estado antioxidante, en el Grupo I, se encontró un aumento en la actividad de la enzima SOD ($p < 0.0318^{*}$); sin embargo, en el Grupo II, este aumento en la actividad de SOD fue más significativo ($p < 0.0081^{**}$). **Conclusiones.** Los resultados muestran que el tratamiento con PPT mejora notablemente la VCN en miembros inferiores, con mejor respuesta en pacientes con menor tiempo de evolución de la DM2 y que el PPT incrementa la actividad enzimática de SOD, pudiendo actuar como un protector en la PND.

Palabras clave: Polineuropatía diabética, pirofosfato de tiamina, velocidad de conducción nerviosa, superóxido dismutasa.

SUMMARY

Introduction. Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM2) is one of the most prevalent conditions in Mexican population and presents multiple microvascular complications including diabetic polyneuropathy (DPN). Currently, the clinical management of DPN focuses on proper glucose control and symptoms relief. The present study addresses the therapeutic use of thiamine pyrophosphate (TPP), which belongs to a group of potent therapeutic agents that activate the transketolase enzyme. This enzyme is important in the pathogenesis of T2DM2 because it reduces the activation of metabolic pathways associated with damage due to diabetic microangiopathy. The establishment of new therapies that induce the activation of said enzyme could diminish the development of alterations such as DPN. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of TPP on nerve conduction velocity (NCV) in lower limbs and the antioxidant status of patients with DPN. **Material and methods.** The present study was a controlled, pre-test / post-test clinical intervention study, in which patients with lower limb DPN determined by the Michigan Test. Two study groups were assigned according to the time of diagnosis of T2DM2: Group I patients with 1 to 10 years and Group II, from 11 to 20 years. Both groups received treatment with TPP (1 mg/kg weight), intramuscularly once a week, for 3 months. The electrophysiological parameters (latency, duration, amplitude and conduction velocity) of the deep peroneal and sural nerves of both lower limbs were analyzed. In addition, biochemical parameters (glucose, cholesterol, triglycerides, etc.) were determined and the activity of the endogenous antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) was determined before the start of treatment and at 3 months. **Results.** At the end of the 3 months of treatment, Group I showed a significant improvement in the NCV in the sural nerve on the right side ($p < 0.0078$ **) and for Group II, it improved on the left side ($p < 0.0495$ *). Regarding the peroneal nerve, for Group I, there was also significant improvement in the NCV on the left side ($p < 0.0019$ **) and for Group II it was improved on the left side ($p < 0.0039$ **). For the antioxidant status, in Group I, an increase in the activity of the SOD enzyme was found ($p < 0.0318$ *); however, in Group II, this increase in SOD activity was more significant ($p < 0.0081$ **). **Conclusions.** The results show that treatment with TPP significantly improves the NCV in lower limbs, with better response in patients with shorter time of evolution of T2DM2, also

TPP increases the enzymatic activity of SOD, and can act as a protector in the DPN.

Key words: Diabetic polyneuropathy, thiamine pyrophosphate, nerve conduction velocity, superoxide dismutase.

DEDICATORIA

*A las personas más importantes de mi vida:
mis padres Marilú e Isidro (†),
mi hermana Marielly
y mis abuelitos Angelita y Panchito,
mis apoyos en todo momento.*

*Por permitirme forjar valores, la confianza, el aprendizaje y
la motivación para el logro de este sueño.*

AGRADECIMIENTOS

Le expreso mi gratitud, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al implementar el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) como parte de la política pública de fomento a la calidad del posgrado nacional. La Universidad Autónoma de Querétaro cuenta con el programa de Maestría en Ciencias en Biomedicina, perteneciente al PNPC, del cual recibí el apoyo de beca para la realización de mis estudios de posgrado.

Reconozco el empeño y le externo mi agradecimiento a mi asesor el Dr. Hebert Luis Hernández Montiel, por todo el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis, el seguimiento y la supervisión continua para que llevara a cabo lo mejor posible el trabajo de investigación. Ya que desde un inicio, me motivó a aprender nuevos conocimientos y con su gran experiencia me ha encaminado al fascinante mundo de la investigación.

A los neurofisiológicos clínicos, la Dra. Liane Aguilar Fabré y el Dr. René Fco. Rodríguez Valdés, por la paciencia al enseñarme las técnicas de estudios de conducción nerviosa, la supervisión en la realización de los mismos y en la interpretación de los resultados obtenidos.

A los alumnos de la Lic. en Medicina Arleim Vania Rojas García y Ricardo André de Luna Sánchez, que me apoyaron en la realización de experimentos con los pacientes de estudio. A la Dra. Brenda Ayala Aguilera, el Dr. Arturo García López y la QFB. Gloria Betzabé Hurtado Ávila en la enseñanza de técnicas de laboratorio y ejecución de las mismas.

Agradezco a mi comité tutorial conformado por la Dra. Nancy Georgina Hernández Chan y el Dr. Juan Carlos Solís Sáinz, por haberse interesado en mi trabajo y por las sugerencias recibidas en las evaluaciones presentadas cada semestre.

A la Dra. Adriana Jheny Rodríguez Méndez que me apoyó en experimentos de la determinación de enzimas antioxidantes del estudio de investigación. A la Dra. Ma. Elena Villagrán Herrera y al Dr. Nicolás Camacho Calderón, por la revisión de esta tesis y por formar parte de mi comité de sinodales.

A Catalina Andrea López González y Salatiel García Moreno, por su apoyo incondicional y por alentarme a cumplir mis metas.

Finalmente, a la Clínica del Sistema Nervioso de la Facultad de Medicina, de la Universidad Autónoma de Querétaro, por abrirme las puertas en canalizar a los pacientes que formaron parte del estudio de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Epidemiología de la DM2 en México	3
2.2 Complicaciones microvasculares: la polineuropatía diabética	4
2.3 Bases neurofisiológicas de la conducción nerviosa	8
2.3.1 Potenciales de acción.....	12
2.3.2 Estudios de conducción en nervios motores y sensoriales	14
2.3.3 Polineuropatías axonales y desmielinizantes.....	19
2.4 Enzimas antioxidantes endógenas	20
2.5 Pirofosfato de tiamina.....	22
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo general.....	26
3.2 Objetivos específicos	26
4. HIPÓTESIS.....	26
5. METODOLOGÍA	26
5.1 Diseño del estudio	26
5.2 Selección de la población de estudio	27
5.3 Tamaño de la muestra	27
5.4 Mediciones y análisis	27

5.4.1 Aplicación Test de Michigan	27
5.4.2 Estudios de conducción nerviosa	30
5.4.3 Obtención de la muestra sanguínea	31
5.4.4 Administración del pirofosfato de tiamina	32
5.4.5 Determinación del perfil bioquímico	32
5.4.6 Determinación de actividad antioxidante	32
5.5 Análisis estadístico	33
5.6 Bioética.....	34
6. RESULTADOS	35
6.1 Características de los grupos de estudios	35
6.2 Estudios de Conducción Nerviosa.....	38
6.3 Determinación de enzimas antioxidantes	44
6.4 Análisis bioquímicos.....	46
7. DISCUSIÓN	51
8. CONCLUSIÓN	55
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
10. ANEXOS	63
Anexo 1. Abreviaturas.....	63
Anexo 2. Test de Michigan	64
Anexo 3. Preparación de soluciones para determinación de superóxido dismutasa	65
Anexo 4. Carta de aprobación de Bioética.....	66
Anexo 5. Consentimiento informado	67
Anexo 6. Normas para estudios conducción nerviosa periférica	68

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Rutas metabólicas asociadas a la polineuropatía diabética_____	7
Imagen 2. Sección transversal de un nervio periférico_____	9
Imagen 3. Conducción continua y saltatoria_____	11
Imagen 4. Principales características del potencial de acción_____	13
Imagen 5. Potenciales de acción muscular compuesto_____	16
Imagen 6. Potenciales de acción nervioso sensitivo_____	18
Imagen 7. Estructura química de la tiamina_____	22
Imagen 8. Estructura química del pirofosfato de tiamina_____	23
Imagen 9. Apariencia del pie_____	28
Imagen 10. Úlceras del pie_____	28
Imagen 11. Técnica reflejo de tobillo_____	28
Imagen 12. Técnica de monofilamento_____	29
Imagen 13. Técnica de la vibración_____	29
Imagen 14. Estimulación distal y proximal del nervio peroneo_____	31
Imagen 15. Estimulación distal del nervio sural_____	31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de las fibras nerviosas _____	9
Cuadro 2. Localización de los tipos de fibras nerviosas _____	10
Cuadro 3. Características neurofisiológicas de las lesiones nerviosas _____	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características basales de los pacientes con DM2 diagnosticados con PND _____	35
Tabla 2. Evaluación pre y post del Test de Michigan _____	36
Tabla 3. Frecuencia de sintomatología que presentaron los pacientes _____	37
Tabla 4. Cambios en los parámetros electrofisiológicos en extremidades inferiores del nervio sural sensitivo durante el estudio _____	38
Tabla 5. Cambios en los parámetros electrofisiológicos en extremidades inferiores del nervio peroneo motor durante el estudio _____	41
Tabla 6. Cambios de la actividad de la enzima superóxido _____	44
Tabla 7. Pruebas de laboratorio antes y después del tratamiento con PPT _____	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Velocidad de conducción nerviosa del nervio sural en miembros inferiores pre y post tratamiento con PPT_____	39
Figura 2. Amplitud proximal del nervio peroneo motor en miembros inferiores pre y postratamiento con PPT_____	42
Figura 3. Velocidad de conducción nerviosa del nervio peroneo en miembros inferiores pre y postratamiento con PPT_____	43
Figura 4. Actividad de la enzima superóxido dismutasa pre y postratamiento con PPT__	45
Figura 5. Cambios en la glucosa en ayunas pre y postratamiento con PPT_____	46
Figura 6. Cambios en las lipoproteínas pre y postratamiento con PPT_____	48
Figura 7. Cambios en parámetros bioquímicos pre y postratamiento con PPT_____	50

1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es una de las enfermedades de mayor prevalencia en población mexicana. Dentro de las complicaciones microvasculares asociadas se incluye la polineuropatía diabética (PND), las úlceras en los pies, gangrena, artropatía de Charcot y un riesgo aumentado de amputación de miembros inferiores, con el consiguiente efecto sobre la calidad de vida de los pacientes con diabetes.

La PND ocurre cuando hay una lesión en las fibras nerviosas y tiene un impacto negativo en el flujo sanguíneo nervioso (Jiménez *et al.*, 2016). Las afecciones que involucran a diferentes componentes del sistema nervioso somático (vía aferente o sensitiva y vía eferente o motora) y autonómico, pueden ser de tipo focal o difuso, proximal o distal. Los factores causales incluyen hiperglucemia persistente, insuficiencia microvascular, estrés oxidativo, neurotrofismo defectuoso y destrucción nerviosa mediada por autoinmunidad (Vinik, 2004; Vinik *et al.*, 2006). Puede haber síntomas motores: paresias de las extremidades afectadas, atrofia de los músculos involucrados, alteraciones de la marcha; síntomas sensitivos: parestesias, disestesias y dolor neuropático; síntomas autónomos: cambios de coloración y tróficos de la piel, retención urinaria y trastornos gastrointestinales (Jiménez *et al.*, 2016).

La hiperglucemia crónica juega un papel clave en el desarrollo y progresión de la PND, las investigaciones sobre la fisiopatología molecular y síntomas de la PND se han centrado en las vías metabólicas de la glucosa: vía de los polioles; vía de la hexosamina; el exceso o activación inapropiada de las isoformas de la proteína quinasa C (PKC) y, acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGE's). La activación desproporcionada de estas vías puede causar un desequilibrio en el estado redox mitocondrial de la célula y conducen, a un exceso de formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Edwards *et al.*, 2008; Torres y Gutiérrez, 2012).

La evaluación clínica y los estudios de conducción nerviosa (ECN) son parte esencial en el diagnóstico, clasificación, tratamiento y pronóstico del paciente con PND. En los ECN, se colocan electrodos superficiales sobre la piel y se realiza un estímulo supramáximo en los nervios motores, sensitivos o mixtos, obteniendo un potencial de acción (Jiménez *et al.*, 2016; Kimura, 2013). La información generada en los ECN permite evaluar parámetros electrofisiológicos como la velocidad de conducción nerviosa (VCN) en m/s; la latencia en ms; la amplitud del potencial evocado motor o sensitivo en mV o μ v; y la duración en ms (Kimura 2013; Valls, 2007).

Actualmente, el tratamiento para la DM2, se focaliza en optimizar el control adecuado de la glucemia con hipoglicemiantes orales y/o insulina, que previene o retrasa el desarrollo de la PND. Cuando ésta se presenta, el tratamiento actual sólo provee alivio a los síntomas; sin embargo, no hay evidencia de que el tratamiento modifique la fisiopatología subyacente de la PND (ADA, 2017). En la PND, se observan alteraciones en diferentes rutas metabólicas donde participa la tiamina o vitamina B1, por lo que su forma activa podría ser candidata como terapia. En el interior de las células, la tiamina se convierte en su forma activa, el pirofosfato de tiamina (PPT), a su vez, el PPT actúa como una coenzima para el complejo piruvato deshidrogenasa y alfa-cetoglutarato deshidrogenasa tanto en el ciclo de Krebs como en la vía pentosa-fosfato. Estos sistemas enzimáticos desempeñan un papel clave en el proceso del metabolismo de los hidratos de carbono, generando el trifosfato de adenosina (ATP) para sustentar energéticamente procesos y reacciones celulares en el sistema nervioso central, que han sido demostrados tanto en tejidos humanos como en tejidos animales (Fernandes *et al.*, 2017).

Además, actúa junto con la transcetolasa en el ciclo de las pentosas (Tornalley, 2005). Por este motivo, el PPT es indispensable en el metabolismo, participando en rutas metabólicas de hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El hígado depende del PPT para su adecuado funcionamiento, si esta coenzima disminuye, el hígado no es capaz de recuperar su metabolismo a menos que se administre de manera exógena (Parkhomenko *et al.*, 1987).

Debido a la baja activación del PPT a partir de la administración oral de la tiamina, es necesario investigar nuevas formas de administración de la coenzima activa, el PPT. Estudios previos con PPT mostraron efectos en la reducción de los niveles de ROS cuando se administra de forma crónica. El PPT fue capaz de disminuir los cambios atróficos relacionados con la edad, mediante la mejoría del metabolismo intermedio y el incremento de los niveles de enzimas antioxidantes endógenas (Hernández *et al.*, 2014).

El PPT es un agente terapéutico que activa a la enzima transcetolasa, por lo que podría ser de gran importancia en la patogenia de la DM2, disminuyendo la activación de las rutas metabólicas asociadas a la microangiopatía diabética. El descubrimiento de nuevas terapias que induzcan la activación de esta enzima, podrían ser de utilidad en el tratamiento de las complicaciones microvasculares, como la polineuropatía diabética.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Epidemiología de la DM2 en México

Los datos epidemiológicos apuntan que, debido al incremento de la población, su envejecimiento, la urbanización y la adición de los factores de riesgo como cambios en la dieta, la obesidad y la inactividad física, la población con diabetes tiene una alta incidencia y prevalencia en el mundo. La OMS, estima que para el 2030, aproximadamente 366 millones de personas padecerán DM2, panorama que nos adelanta el gran impacto económico que tendrá para los sistemas de salud nacional e internacionales (Wild *et al.*, 2004).

La DM2 es una de las enfermedades de mayor prevalencia en la población mexicana. La Secretaria de Salud ha documentado a través de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) un panorama estadístico sobre el desempeño del sector salud, con énfasis en la Estrategia Nacional para la Prevención y Control del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes, en los ámbitos nacional, regional y en las zonas urbanas y rurales. La encuesta más reciente, la ENSANUT MC 2016, revela la prevalencia de DM2 en adultos de 60-79 años: 9.4% (10.3% mujeres y 8.4%, hombres); se observó un aumento progresivo en relación al año 2012 (9.2%) y al 2006 (7.2%). El 87.8% de los pacientes con diabetes están bajo tratamiento médico, 11.1 % usan insulina y 8.8% hipoglucemiantes orales e insulina (ENSANUT MC, 2016).

En el último año, el 15.2% de los pacientes con diabetes se realizaron determinación de hemoglobina glicosilada, 4.7% de microalbuminuria y 20.9% revisión de extremidades inferiores. Las alteraciones de la visión sin ceguera fueron la complicación más frecuente (54.5%), seguida de disestesias en plantas de los pies (41.2%), fatiga (20.4%), retinopatía (11.2%), ceguera (9.9%), úlceras (9.1%) y amputaciones (5.5%) (ENSANUT MC, 2016).

Además, se encontró que el 46.4% de los pacientes con diabetes no realiza medidas preventivas para evitar o retrasar alguna complicación por la enfermedad. Las medidas preventivas implementadas en mayor proporción en el último año fueron: revisión de pies (20.9%), medición de colesterol y triglicéridos (15.2%), aplicación de vacunas contra influenza (15.1%), examen general de orina y microalbuminuria (14.2%) y revisión oftalmológica (13.1%) (ENSANUT MC, 2016).

Cabe destacar que, para el estado de Querétaro, sólo se cuenta con datos epidemiológicos del 2012, en el cual, la prevalencia de diagnóstico médico previo de DM2 se ubicó debajo de la

media nacional 9.2% de ese año. El diagnóstico de la DM2 en personas de 20 años o más fue de 7.5%, mayor a la reportada en la ENSANUT 2006 (5.3%), fue ligeramente mayor en mujeres (8.7%) que en hombres (6.0%); en adultos de 40 a 60 años de edad, se observó en hombres un 10.1% y en mujeres 14.7% (ENSANUT, 2012).

2.2 Complicaciones microvasculares: la polineuropatía diabética

La PND es una complicación que se observa en la diabetes mellitus tipo 1 y en la DM2. Se presenta de forma más frecuente en la DM2, afecta al 60% en pacientes de 40 años o más, de los cuales más del 50% son asintomáticos. La PND ocurre cuando hay una lesión en las fibras nerviosas, es decir, son daños de la mielina, de los axones o de ambos componentes y presentan alteraciones en el flujo sanguíneo de los nervios periféricos (Salinas *et al.*, 2008). El daño a los nervios sensoriales puede derivar en adormecimiento en pies, con menor capacidad para detectar la temperatura, insensibilidad al dolor o hipersensibilidad al mismo. El daño a los nervios motores, provoca debilidad muscular y dolor. Los nervios autónomos, incluyen la intolerancia al calor, pérdida del control de la vejiga y trastornos gastrointestinales, problemas para respirar y de ritmo cardíaco (Cardinali, 2007).

Los pacientes con diabetes con más de 5 años de evolución deben ser valorados anualmente para descartar la PND, utilizando la historia y pruebas clínicas sencillas. En la historia clínica se debe interrogar sobre el tipo de síntomas sensitivos, motores y autonómicos; forma de progresión y tiempo de aparición de los síntomas (agudos, crónicos o con períodos de recaída y de remisión); localización de los síntomas (distales, proximales, simétricos o asimétricos). Además, deben investigarse los antecedentes familiares para confirmar o descartar una neuropatía hereditaria e interrogar sobre el tipo de dolor y la presencia de alodinia (percepción anormal del dolor) o hiperalgesia (sensibilidad excesiva al dolor), disestesias (sensación desagradable, puede ser espontánea o evocada por algún estímulo; trastornos en la sensibilidad, ardor, quemazón) o parestesias (sensación anormal, espontánea o provocada, no desagradable; pérdida de sensibilidad superficial y profunda, sensación de hormigueo, adormecimiento) (Salinas *et al.*, 2008).

En México, la *Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus*; la *Guía de práctica clínica prevención, diagnóstico y tratamiento oportuno del pie diabético en el primer de atención* y la *Guía de práctica clínica de diagnóstico y tratamiento médico del dolor por neuropatía diabética en adultos en el primer nivel de*

atención, evidencias y recomendaciones, indican que se debe realizar una exploración neurológica completa en todo el paciente con diabetes, al diagnóstico y con revisiones periódicas o al aparecer los síntomas de la PND. El médico de primer nivel debe efectuar un examen físico de los pies (sin calzado, sin calcetines, sin medias) en los pacientes que presenten dos o más síntomas sensoriales o motores que incluyan dolor o alteraciones en la sensibilidad, distales y simétricos, de predominio en miembros inferiores (pies), particularmente cuando éstos muestran una localización ascendente (Gutiérrez *et al.*, 2013).

Los sujetos con PND presentan resequedad y agrietamiento de la piel, dolor o ardor, callosidades en sitios de presión, falta de sensibilidad al dolor y a la temperatura, así como deformidades, dificultad para caminar, alopecia en piernas y pies, pulsos disminuidos, reflejos disminuidos o ausentes, atrofia muscular y úlceras como consecuencia de traumas térmicos, mecánicos o químicos (Fitzgerald, 2002; Mendoza y Ramírez, 2005).

En el examen físico, suele haber una distribución simétrica de las anomalías sensoriales en ambos miembros inferiores. En casos severos, las manos pueden estar involucradas. Todas las modalidades sensoriales pueden ser afectadas, particularmente la pérdida de vibración, el tacto y la percepción de la posición (daño A α / β -fibra grande), la percepción anormal del calor y el frío (fibra A δ pequeña y daños no mielinizados de la fibra C). Los reflejos de tobillo y rodilla pueden estar ausentes o reducirse (Boulton *et al.*, 2004; Sinnreich *et al.*, 2005; Vinik *et al.*, 2006). En la exploración física, se utilizan instrumentos sencillos: una torunda de algodón seca (fibras $\alpha\beta$, tacto); un palillo de dientes de madera (fibras $\alpha\delta$, dolor, fino) o similar; un objeto frío y otro caliente (pueden ser pequeños rodillos metálicos o similar; fibras $\alpha\delta$, frío; fibras C, calor), diapason de 128 Hz (fibras $\alpha\beta$, vibración), monofilamento (identificar riesgo de ulceración o amputación) (Rosas *et al.*, 2010).

2.21 Fisiopatología de la PND

La hiperglucemia juega un papel clave en el desarrollo y progresión de las complicaciones microvasculares de la diabetes (DM) y, por tanto, de la PND. Las investigaciones se han centrado en las vías metabólicas de que dispone la célula para metabolizar la glucosa: vía de los polioles; vía de la hexosamina; el exceso o activación inapropiada de las isoformas de la proteína quinasa C (PKC) y acumulación de productos finales de glicación avanzada (AGE). Su activación anormal causa un desequilibrio en el estado redox mitocondrial de la célula y

conduce a un exceso de formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Edwards *et al.*, 2008).

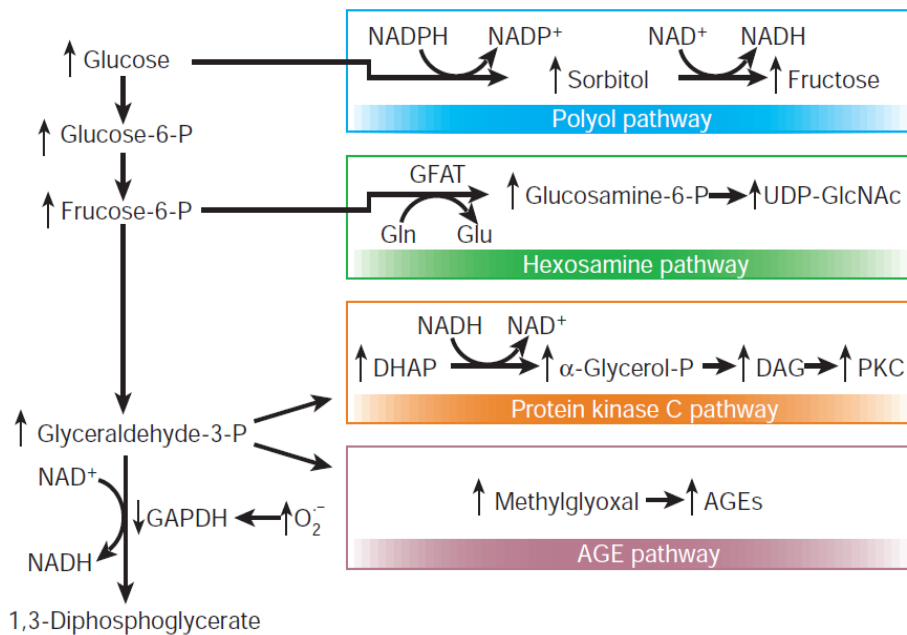
El inicio de la alteración clínica del pie radica en el descontrol metabólico que potencia la vía de incremento en el sorbitol intraneural por glucosilación proteica no enzimática, lo cual provoca una disminución de mioinositol y ATPasa, con la consecuente degeneración neuronal y el retardo en la velocidad de la conducción nerviosa. Por otro lado, la misma hiperglucemia crónica provoca alteración en la vasculatura endoneural, lo cual disminuye el flujo y ocasiona hipoxia neural, con lo que se genera el mecanismo fisiopatológico inicial de la PND, cuyo componente sensitivo en el pie diabético, va generando pérdida sensorial térmica, vibratoria y táctil que hace vulnerable frente a traumatismos, por lo que van apareciendo callosidades, úlceras y deformaciones óseas (Mendoza y Ramírez, 2005).

La **vía de los polioles** se caracteriza por un aumento de sorbitol, fructosa y reducción del mioinositol, con elevación del estado osmótico intracelular, del estrés oxidativo y una reducida defensa endotelial. Esta vía implica dos reacciones en las que intervienen la enzima aldosa-reductasa que convierte de forma irreversible la glucosa en sorbitol y la enzima sorbitol-deshidrogenasa, que interviene en la formación de la fructosa a partir de sorbitol. La aldosa-reductasa está presente en todos los tejidos donde se produce lesión en la DM: el cristalino, los pericitos de los capilares retinianos, el riñón, el endotelio vascular y las células de Schwann de los nervios periféricos. El sorbitol no puede cruzar las membranas celulares, provocando su acumulación en las células, causando hiperosmolaridad, con flujo de salida de taurina, mioinositol y adenosina, repercutiendo en la lesión progresiva de la célula de Schwann y en su desmielinización segmentaria. La disminución en la velocidad de conducción del nervio está relacionada con el contenido de mioinositol. Por lo cual, se genera una reducción de la actividad de la bomba Na^+/K^+ dependiente de ATP, la cual origina una acumulación de iones de sodio en la región interna del axolema que reduce el potencial de membrana a este nivel y con ellos la velocidad de conducción nerviosa. Asimismo, la inducción de la enzima aldosa-reductasa agota NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), un requisito para la regeneración antioxidante celular y el glutatión reducido, contribuyendo al estrés oxidativo; además puede aumentar la formación de diacilglicerol (DAG), que activa la vía PKC (véase Imagen 1) (Oyenihi *et al.*, 2015).

En la **vía de la hexosamina**, la fructosa-6 fosfato es un intermedio metabólico de la glucólisis que se forma a partir de glucosa-6-fosfato por la enzima fosfogluco-isomerasa. Sin embargo, en presencia de un alto contenido de glucosa, la fructosa-6-fosfato se puede acumular y se

metaboliza por la vía de la hexosamina. Aquí, la fructosa-6-fosfato se convierte a la glucosamina-6-fosfato por la acción catalítica de la aminotransferasa de enzima glutamina-fructosa-6-fosfato. La glucosamina y el exceso de los pro-oxidantes de las mitocondrias, lesionan las hélices del ADN, la transcripción genética y las proteínas circulantes que, al alterar la matriz extracelular, facilitan la patología vascular. El estrés oxidativo ocasionado por un exceso de los factores oxidantes sobre los antioxidantes provoca todo el daño biológico oxidativo celular (véase Imagen 1) (Oyenihi *et al.*, 2015; Rosas *et al.*, 2010).

Imagen 1. Rutas metabólicas asociadas a la polineuropatía diabética



Fuente. Brownlee, 2011

La **proteína quinasa C (PKC)** es una enzima que regula la bomba de Na^+/K^+ ATPasa, y es estimulada por el diacilglicerol (DGA); se encuentra disminuida por la alteración de los fosfoinosítoles y contribuye a la anomalía funcional de la célula nerviosa. El DGA es el activador más importante de 9 isoformas de 11, de la PKC. Por lo tanto, la activación de PKC es relevante para la función nerviosa y la patogénesis de la PND, a través del desencadenamiento de una cascada de señalización intracelular que modifica la expresión de los genes sobre produciendo citocinas proinflamatorias en las células endoteliales, aumentando las moléculas de adhesión en el plasma. El elevado estado oxidativo altera la producción del óxido nítrico que modifica el tono vascular. De esta forma, se altera el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular y la

angiogénesis, ocasionando oclusión capilar y fibrinólisis. Además, se produce alteración en la conducción nerviosa, restringiendo el flujo sanguíneo cuando su actividad es baja o causando deterioro de las funciones nerviosas, al afectar la actividad de los neuroquímicos cuando su propia actividad es alta (véase Imagen 1) (Oyenihi *et al.*, 2015; Rosas *et al.*, 2010).

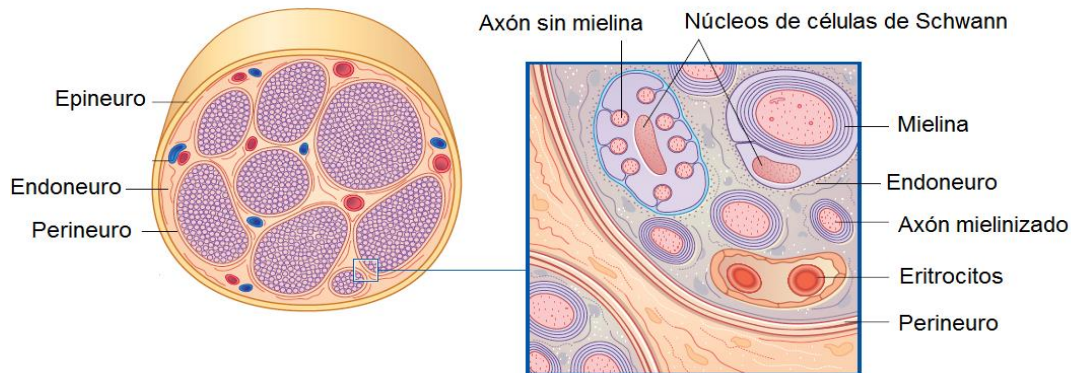
Los **productos finales de glicosilación avanzada (AGE)** son el resultado de la reacción de la glucosa y otros monosacáridos con proteínas. Produciendo moléculas modificadas química y biológicamente, que llevan a diversos desequilibrios. La glicosilación no enzimática de proteínas es dependiente de la elevación de glucosa extracelular e intracelular; se produce directamente anión superóxido, en cantidades suficientes como para desencadenar peroxidación lipídica. El glioxal, especie derivada de la oxidación de la glucosa, degradación de proteínas glicosiladas y peroxidación que acelera la formación de los AGE's. El glioxal está elevado en la hiperglucemia crónica. En el interior de las fibras nerviosas afecta a la tubulina, interfiriendo el transporte axoplasmático. En el citoplasma de la vaina de la Schwann se puede observar glicación de las proteínas relacionadas con la mielina. A nivel extracelular afecta a las proteínas relacionadas con la membrana basal de los *vasa vasorum*, lo cual reduce su recambio y origina el engrosamiento de la misma. La glicación no enzimática causa un atrapamiento de proteínas plasmáticas, tanto inmunoglobulinas como albúmina, y con ello una disminución de la actividad de los proteoglicanos, con acción neurotrófica que promueven el crecimiento y la regeneración neural. Las alteraciones en los vasos sanguíneos, como el engrosamiento con duplicación de la membrana basal, la agregación plaquetaria, la trombosis, la proliferación del endotelio y el cierre de la luz capilar causan isquemia, la cual desempeña un papel importante en la patogénesis de la PND. Los AGE's, alteran las proteínas intracelulares, además de la acumulación endotelial de aldehídos y la interacción de los AGEs, que activan finalmente, el estado proinflamatorio y procoagulante, cerrándose así, un estado de retroalimentación que agrava la PND. De esta forma, ocasiona un elevado estrés oxidativo que daña el endotelio y genera la disfunción vascular, favoreciendo la PND (véase Imagen 1) (Rosas *et al.*, 2010).

2.3 Bases neurofisiológicas de la conducción nerviosa

Los nervios periféricos comprenden los nervios craneales y espinales que unen el cerebro y la médula espinal con los tejidos periféricos. Los nervios periféricos están revestidos de **epineuro**, una vaina suelta de tejido conjuntivo (tejido conectivo) vascular que rodea los fascículos (haces de fibras) que componen el nervio. Cada fascículo está cubierto de **perineuro**, compuesto por

varias capas de tejido epitelial de revestimiento. Alrededor de las células individuales de Schwann hay una red de fibras colágenas reticulares, el **endoneuro** (véase Imagen 2). Los tres tipos de tejido conjuntivo contienen en su estructura fibroblastos, fibras de colágeno, mastocitos y macrófagos (Fitzgerald *et al.*, 2012).

Imagen 2. Sección transversal de un nervio periférico



Fuente. Modificado de Fitzgerald *et al.*, 2012

El sistema nervioso periférico (SNP) está compuesto por fibras nerviosas que se intercambian entre fascículos a lo largo del curso del nervio. El término fibra nerviosa es utilizado habitualmente en el contexto de la conducción del impulso nervioso, donde es equivalente al axón. Una definición anatómica es posible para una fibra mielinizada y no mielinizada. Las fibras nerviosas se clasifican de acuerdo a su diámetro, mielinización y capacidad de conducción de los impulsos (véase Cuadro 1) y de acuerdo a su localización (véase Cuadro 2). Las fibras del motor se clasifican en grupos A, B y C en orden descendente. Las fibras sensoriales se clasifican en los tipos I-IV. En la práctica, hay algún intercambio de uso: por ejemplo, las fibras sensitivas no mielinizadas se denominan normalmente fibras C en lugar de tipo IV (Fitzgerald *et al.*, 2012) (véase Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de las fibras nerviosas periféricas

Tipo de nervio		Número	Letra	Diámetro (µm)	Velocidad de conducción (m/s)
Mielinizada	Larga	I	A α	12-20	70-120
	Media	II	A β	6-12	35-70
	Pequeña	III	A γ	3-6	10.40
	Pequeña	--	A δ	2-5	5-35
No mielinizada		IV	C	0.2-1.5	0.5-2

Fuente. Modificado de Fitzgerald *et al.*, 2012

Cuadro 2. Localización de los tipos de fibras nerviosas periféricas

Tipo de fibra		Origen
Sensorial	Ia	Terminaciones de huso muscular
	Ib	Órgano tendinoso de Golgi
	II (A β)	Corpúsculos de Meissner (Corpúsculos del tacto); receptores de contacto o presión en la piel y en otros lugares.
	III (A δ)	Terminaciones foliculares; dolor rápido y receptores térmicos
	IV (C)	Dolor lento, picazón, receptores táctiles
Motor	A α	Las neuronas motoras alfa que suministran fibras musculares extrafusales
	A β	Las neuronas motoras gamma que suministran fibras musculares intrafusales

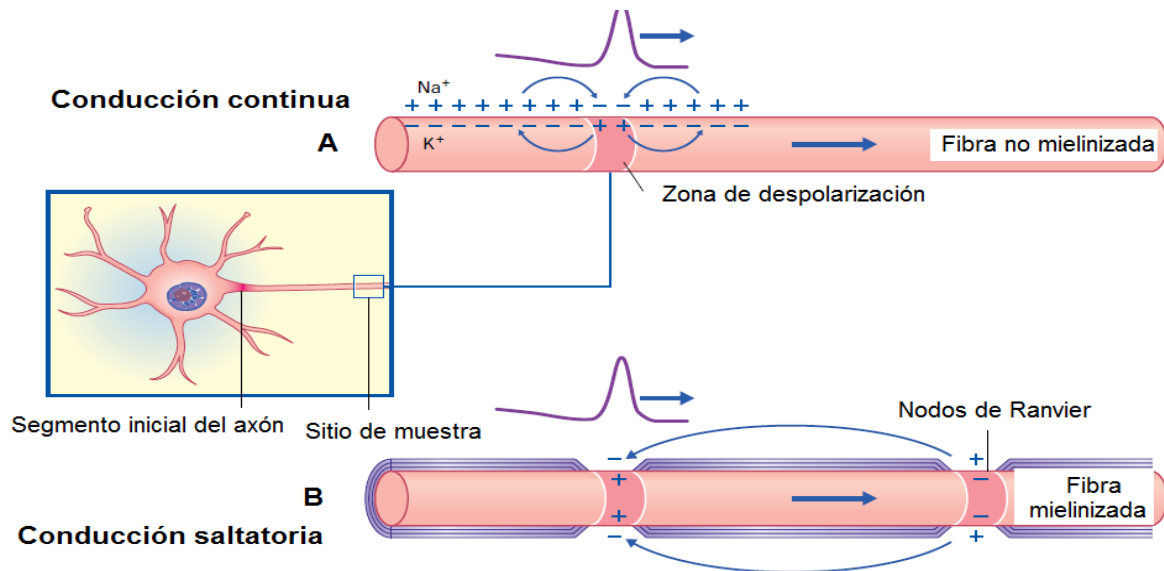
Fuente. Modificado de Fitzgerald et al., 2012

El axón es la porción de la fibra nerviosa que constituye la prolongación periférica del cuerpo celular. Posee una membrana en su superficie exterior llamada axolema, que tiene una estructura trilaminar de aproximadamente ocho nanómetros de espesor. En su interior se encuentra ubicado el citoplasma del axón, denominado axoplasma, el cual contiene los organelos celulares: mitocondria, retículo endoplásmico liso y varias estructuras filamentosas como los microfilamentos, los neurofilamentos y los neurotúbulos (véase Imagen 2). Estos participan en los mecanismos de transporte axonal, que se efectúa en sentido anterógrado a una velocidad de 0.25 a 400 mm/día, permitiendo el flujo de glicoproteínas y de enzimas asociadas con la formación de neurotransmisores. El flujo axonal retrógrado se realiza a la mitad de la velocidad del anterógrado. Entre el axolema y la célula de Schwann hay un espacio aproximado de 20 nanómetros, llamado región periaxonal (Zarco, 2003).

Las **fibras mielinizadas**, son largas y más gruesas, constan del axón, células de Schwann y la cubierta cilíndrica de mielina que rodea al axón, la cual se interrumpe a intervalos regulares exponiendo el axón en regiones denominadas **nodos de Ranvier**. La mielina presente entre los nodos de Ranvier se llama internodo y se origina de una célula de Schwann. El nodo de Ranvier tiene un área en la que el diámetro del axón disminuye y se denomina el axón nodal. Allí el axolema contiene una gran densidad de canales de sodio y en el axoplasma se incrementan los organelos celulares. Existe un engrosamiento asimétrico de la vaina de mielina a unas 40 micras de ambos lados del nodo que conforma la región paranodal. Se ha sugerido está asociada con la generación del potencial de acción y tiene una alta concentración de canales de sodio (véase Imagen 3) (Zarco, 2003).

A lo largo de las fibras mielinizadas, la membrana excitable se limita a los nodos de Ranvier, porque la mielina es un aislante eléctrico. La conducción del impulso se llama **saltatoria**, porque salta de nodo a nodo. La velocidad de conducción es mucho mayor a lo largo de las fibras mielinizadas, con un máximo de 120 m/s. El número de impulsos que pueden ser conducidos por las fibras mielinizadas es también mucho mayor que el de los no mielínicos. Cuanto mayor es la fibra mielinizada, más rápida es la conducción, porque las fibras más grandes tienen segmentos internodales más largos y los impulsos nerviosos toman pasos más largos entre los nodos. Se puede usar una “regla de seis” para expresar la relación entre tamaño y velocidad: una fibra de 10 μm de diámetro externo (es decir, incluyendo mielina) conducirá 60 m/s, una de 15 μm a 90 m/s, y así sucesivamente (véase Imagen 3) (Fitzgerald *et al.*,2012).

Imagen 3. Conducción continua y saltatoria



Fuente. Modificado de Fitzgerald *et al.*, 2012

Las **fibras no mielinizadas**, son más delgadas y de baja velocidad en el impulso, comparten células de Schwann. Estas fibras viajan en canales a lo largo de la superficie de las células de Schwann. A lo largo de las fibras no mielinizadas, la conducción de impulsos es **continua** (ininterrumpida). Su velocidad máxima es de 2 m/s (véase Imagen 3) (Fitzgerald *et al.*,2012).

2.3.1 Potenciales de acción

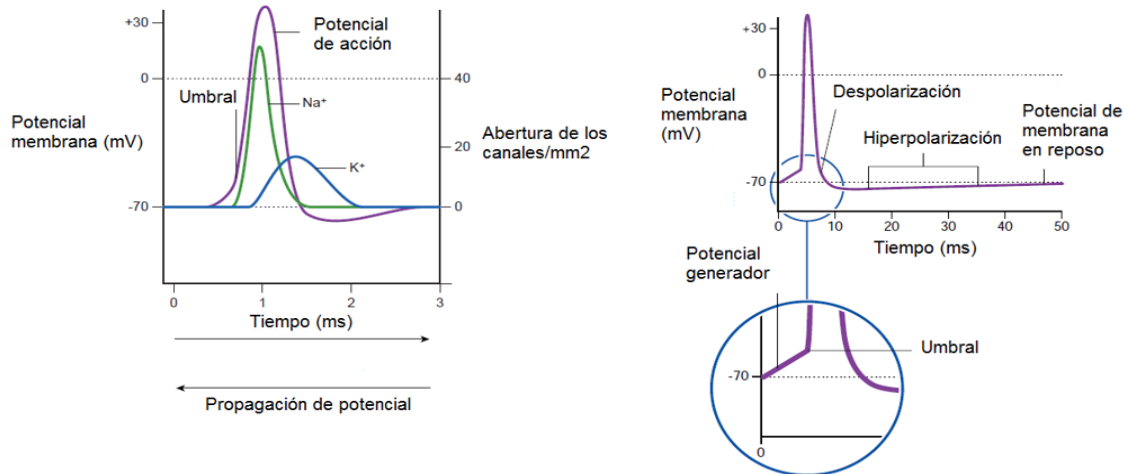
La neurona tiene las características de excitarse y transmitir el impulso a lo largo del axón, recibe impulsos por un polo aferente que son el soma y las dendritas, descargándolos por su polo eferente formado por el axón y sus ramas. Para entender mejor la conducción nerviosa, se debe tomar en cuenta las propiedades eléctricas que presenta la membrana celular la cual cumple la función más importante en la conducción del impulso nervioso. La membrana celular es permeable porque deja pasar ciertos iones que son átomos cargados eléctricamente. Toda membrana semipermeable posee un proceso selectivo en el paso de iones de manera que algunos pueden atravesar la membrana y otros no, esto depende del tipo de carga ya que esta puede tener carga eléctrica negativa como positiva. El resultado de la permeabilidad selectiva de la membrana crea una distribución desigual de iones en el interior y en el exterior de las células la cual se conoce como potencial de membrana y reposo (Fitzgerald *et al.*, 2012).

El potencial de membrana es la diferencia de potencial a ambos lados de una membrana celular la cual separa dos soluciones de diferentes concentraciones de iones, ésta a su vez presenta el "potencial de difusión" o "potencial de unión líquida" que se produce cuando dos disoluciones de diferentes concentraciones están en contacto entre sí a través de una membrana semipermeable produciendo cambios transitorios en el flujo de la corriente a través de la membrana celular por las señales eléctricas, esta corriente ya sea del interior o del exterior de ellos son controlados por los canales iónicos situados en la membrana celular (Fitzgerald *et al.*, 2012).

El potencial de acción se caracteriza por una fase ascendente desde la línea de base hasta +35 mV, una fase descendente hasta la línea de base seguida por una fase de hiperpolarización hasta -75 mV con retorno a la línea de base. El desencadenamiento de la rápida despolarización es la activación de canales iónicos con voltaje, por lo que el canal iónico se abre brevemente (1 ms) abriendo completamente, permitiendo la entrada masiva de Na⁺ por el gradiente de concentración y se inclina el potencial a +35 mV, después de lo cual los canales son cerrados por puertas de inactivación y se abren los canales de K⁺ con voltaje, con un interruptor de corriente desde la entrada de Na⁺ a la salida de K⁺. Cuando el potencial de membrana se aproxima a la normalidad, el canal iónico de sodio vuelve a su estado inactivo de reposo (véase Imagen 4) (Fitzgerald *et al.*, 2012).

La respuesta potencial de acción a la despolarización es todo o nada, un término que significa que, si ocurre en absoluto, es total. Los potenciales de acción se propagan a toda su fuerza a lo largo de la fibra nerviosa hasta llegar a las terminaciones nerviosas, lo que en el caso de las neuronas de las extremidades inferiores puede estar a más de un metro de distancia de los somas (véase Imagen 4) (Fitzgerald *et al.*, 2012; Zarco, 2003).

Imagen 4. Principales características del potencial de acción



Fuente. Modificado de Fitzgerald *et al.*, 2012

Durante las fases de elevación y de caída temprana del potencial de acción, la neurona pasa a través de un período refractario absoluto donde es incapaz de iniciar un segundo impulso debido a que demasiados canales con voltaje están ya abiertos. Esto es seguido por un período refractario relativo, donde los estímulos que exceden el requisito estándar de 15 mV pueden provocar una respuesta. Es muy común que el potencial del generador alcance hasta 35 mV, impulsando impulsos a 50-100 impulsos por segundo, expresado como 50-100 Hz (Hercios= tiempo por segundo) (véase Imagen 3). Durante la propagación del potencial, la carga interna positiva de la membrana pasa en ambas direcciones dentro del axoplasma, mientras que la carga externa positiva pasa en ambas direcciones dentro del líquido extracelular para neutralizar el potencial externo negativo. La membrana inmediatamente proximal es suficientemente refractaria para resistir la despolarización, mientras que inmediatamente distal sufre una respuesta local (despolarización) que avanza hasta el nivel de disparo. Este proceso continúa distalmente a lo largo del axón del tallo y sus ramas, conduciendo así el potencial de acción hasta las terminales nerviosas. Mientras que la conducción a lo largo de las fibras

nerviosas no mielinizadas es continua, a lo largo de las fibras mielinizadas es saltatoria (véase Imagen 4) (Fitzgerald *et al.*, 2012; Zarco, 2003).

Las vainas de mielina son aisladores eficaces que recubren los segmentos internodales, mientras que los canales de Na⁺ son muy abundantes en los nodos. En consecuencia, se generan potenciales de espiga en cada nodo sucesivo, la corriente positiva se desplaza a lo largo del axoplasma del entrenudo antes de salir en el siguiente nodo en línea. A medida que la corriente recorre ambientes acuosos de líquido extracelular para recargar el parche despolarizado de la membrana, la retirada de la carga positiva hace que el siguiente nodo se despolarice (véase Imagen 4) (Fitzgerald *et al.*, 2012; Zarco, 2003).

En las fibras nerviosas no mielinizadas, la velocidad de conducción es proporcional al diámetro axonal, porque a) cuanto mayor es el volumen del axoplasma, más rápido es el flujo longitudinal de la corriente; y (b) los axones más anchos tienen una mayor área superficial de la membrana, con un aumento proporcional en el número de canales iónicos que permite una despolarización más rápida de la membrana y una recuperación de voltaje (véase Imagen 3) (Fitzgerald *et al.*, 2012; Zarco, 2003).

2.3.2 Estudios de conducción en nervios motores y sensoriales

Los estudios de conducción nerviosa (ECN) o la electroneurografía, se basan en el estudio de la conducción de las fibras nerviosas, motoras y sensitivas, evaluándose básicamente la integridad y función de los nervios periféricos del organismo. Con estos estudios se mide la capacidad de los nervios periféricos para conducir señales eléctricas, por lo que son pruebas sensibles a los cambios patológicos que pueden ocurrir en las vainas de mielina, en los nodos de Ranvier y en los axones, y aportan información sobre la presencia, distribución y severidad de cualquier enfermedad de los nervios periféricos (Santos, 2003; Salinas *et al.*, 2008). Además, de los ECN se emplean otras técnicas como el reflejo H y la onda F, la estimulación repetitiva y la electromiografía, que implican la conducción a través de las raíces espinales y partes proximales de los nervios periféricos y, por lo tanto, sirven de información diagnóstica importante sobre los trastornos que afectan estas áreas (Waxman, 2011).

La valoración clínica y los ECN son parte esencial para la evaluación diagnóstica del paciente con polineuropatía, permiten comprender de forma más profunda los cambios fisiopatológicos,

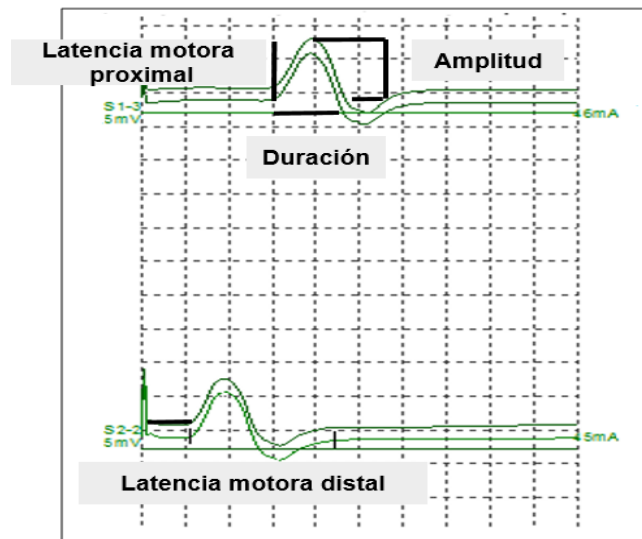
detectar cambios iniciales en polineuropatías, clasificar el tipo de lesión, a su vez de instaurar diagnósticos diferenciales y establecer terapias adecuadas. Sin embargo, los casos con polineuropatías se presentan con mayor frecuencia en pacientes mayores de 60 años y se encuentran fisiopatológicamente relacionados con trastornos metabólicos como la hipertrigliceridemia e intolerancia a la glucosa, entre otros. Para la evaluación electrofisiológica de un paciente, se analizan diferentes nervios y dependen del tipo de polineuropatía y del criterio del neurofisiólogo (Jiménez *et al.*, 2016).

Los ECN, se llevan a cabo colocando electrodos superficiales sobre la piel para estimular los nervios periféricos que se pretenden evaluar y los potenciales de acción compuestos resultantes, se registran en otro sitio a lo largo del nervio o sobre un músculo que es inervado por el nervio estudiado. Por lo cual, se lleva a cabo el registro del potencial eléctrico generado, debido a cambios transitorios en la permeabilidad iónica de las membranas celulares y a los cambios de carga eléctrica que ello supone; en el músculo (ECN motora) o en el propio nervio (ECN sensitiva) al estimular uno o más puntos de la fibra nerviosa a través de la piel (Waxman, 2011). Para obtener la velocidad de conducción nerviosa (VCN) se toma en cuenta la distancia entre los sitios de estimulación dividida entre la latencia. Habitualmente, la VCN se calcula de forma automática con los programas computacionales incluidos en los instrumentos de medición. La información generada en los ECN permite evaluar parámetros electrofisiológicos como la velocidad de conducción, la latencia o la morfología, la amplitud del potencial evocado motor o sensitivo y la duración (Jiménez *et al.*, 2016; Valls, 2007).

En los ECN motores, se estimula un nervio motor (nervio tibial o peroneo) con pulsos eléctricos de una intensidad supramáxima, es decir, que se despolariza la gran mayoría de los axones motores, en dos puntos a lo largo de su trayecto y la respuesta motora producida por uno y otro estímulo nervioso en un músculo inervado por ese nervio y seleccionado para el estudio, se registra como un **potencial de acción muscular compuesto** (PAMC). Un PAMC, a su vez, es la expresión gráfica del campo de potencial eléctrico que surge en el músculo, por la suma espacial y temporal de todos los potenciales de acción que son generados en las fibras musculares de diferentes unidades motoras, por la estimulación eléctrica del nervio motor (véase Imagen 5) (Jiménez *et al.*, 2016; Santos, 2003).

La **latencia motora** es el tiempo que transcurre desde el comienzo de la estimulación eléctrica del nervio en un punto dado y el comienzo del PAMC en el músculo correspondiente (véase Imagen 5). La latencia representa tres procesos separados: (1) el tiempo de conducción nerviosa desde el sitio del estímulo hasta la unión neuromuscular, (2) el retardo a través de la unión neuromuscular y (3) el tiempo de despolarización a través del músculo. Las mediciones de latencia generalmente se hacen en milisegundos (ms) y reflejan sólo las fibras motoras más rápidas (Jiménez *et al.*, 2016; Preston y Shapiro, 2013; Santos, 2003).

Imagen 5. Potenciales de acción muscular compuesto



Fuente. Tomada de equipo Neuronic 5, Mexicana S.A. de C.V.

La **amplitud de un PAMC**, es la diferencia de voltaje entre la línea base del registro y el pico negativo mayor del potencial, es decir se realiza una medición de amplitud línea base-pico; siendo su unidad de medida el microvoltio (μV) o milivoltio (mV) (véase Imagen 5). Otra forma de medir la amplitud del PAMC es hacerlo entre el pico negativo mayor y el pico positivo mayor del potencial, o sea una medición pico-pico. El parámetro amplitud del PAMC contiene información sobre el número de unidades motoras que descargan por la estimulación eléctrica del nervio periférico y su tamaño es, poco más o menos, proporcional al número de fibras musculares excitadas dentro del área del electrodo de registro. Interviene también en el valor de la amplitud del PAMC, el grado de dispersión temporal de las velocidades de conducción propias de los axones motores que integran el nervio estimulado (Santos, 2003). Aunque las amplitudes bajas de PAMC resultan más frecuentemente de la pérdida de axones (como en una neuropatía axonal típica), otras causas de una amplitud baja del PAMC incluyen el bloqueo de

conducción de la desmielinización localizada entre el sitio de estimulación y el músculo registrado, así como algunos trastornos neuromusculares y miopatías. Solo entonces se pueden evaluar posibles procesos fisiopatológicos en las unidades motoras, que expliquen una disminución en el valor de la amplitud del PAMC (Preston y Shapiro, 2013).

La **duración del PAMC**, es el tiempo transcurrido entre el inicio de la forma de la onda del PAMC, y el primer cruce de la línea que marca el cero potencial (véase Imagen 5). Es una medida de sincronía, es decir, la medida en que cada una de las fibras musculares individuales dispara al mismo tiempo. La duración aumenta característicamente en las condiciones que dan lugar a la ralentización de algunas fibras motoras, pero no a otras (por ejemplo, en una lesión desmielinizante). Un incremento en la duración con una caída en la amplitud y en consecuencia con muy poca variación en la superficie del PAMC será compatible con una incrementada dispersión temporal, por ejemplo, durante una polineuropatía desmielinizante. Una caída en la amplitud con poca variación en la duración del PAMC, será lo característico si existe un bloqueo de la neuroconducción (Jiménez *et al.*, 2016; Preston y Shapiro, 2013; Santos, 2003).

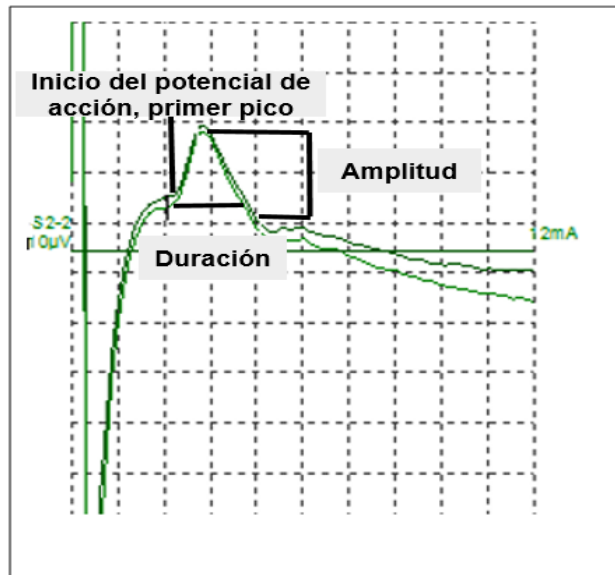
La **VCN motora** mide la velocidad de conducción en los axones motores más rápidos dentro del nervio motor en estudio y no puede calcularse realizando una única estimulación, se deben utilizar dos sitios de estimulación, uno distal y otro proximal. Para obtener el valor de la VCN se calcula, la distancia entre los sitios de estimulación (proximal y distal) dividido entre la latencia (proximal y distal) (Jiménez *et al.*, 2016; Santos, 2003).

En el ECN sensitivo, se analiza el nervio sural; se genera un estímulo distal obteniendo un **potencial de acción nervioso sensitivo (PANS)** que se registra en el trayecto de un nervio, inicia con una pequeña onda positiva hacia abajo (véase Imagen 6) (Jiménez *et al.*, 2016). Un PANS es el resultado del proceso de sumación temporal y espacial de los potenciales de acción generados en las fibras nerviosas sensitivas mielínicas, por el estímulo eléctrico aplicado. Un PANS es casi siempre trifásico y comienza con una pre-onda positiva (Santos, 2003). Para mejorar las condiciones de registro de PANS tan pequeños, se emplea la técnica de promediación de la señal con respecto al estímulo (Valls, 2007).

La **latencia de inicio**, es el tiempo desde el estímulo hasta la deflexión negativa inicial desde la línea de base para los PANS bifásicos o hasta el pico positivo inicial para PANS trifásicos (Véase Imagen 6). La latencia representa el tiempo de conducción nerviosa desde el sitio del estímulo hasta los electrodos de registro para las fibras sensitivas cutáneas más grandes del nervio que se estudia. La medición de la latencia puede hacerse midiendo el lapso de tiempo

entre el inicio del estímulo y el primer pico positivo del potencial, si este pico no se registrara, se mide entonces hasta el momento en que el PANS abandona la línea de cero potencial para moverse en hacia la zona negativa. También se puede medir hasta el primer pico negativo, pero debe tenerse presente que, en esta última forma, la latencia de los PANS será, como promedio, alrededor de 0,4 ms más prolongada, y con ello se obtienen VCN sensitivas entre 5 y 10 m/s más lentas (Santos, 2003).

Imagen 6. Potenciales de acción nervioso sensitivo



Fuente. Tomada de equipo Neuronic 5, Mexicana S.A. de C.V.

La **amplitud de los PANS**, refleja la suma de todas las fibras sensoriales que se despolarizan y esta determinadas por el número de los axones sensitivos excitados, se mide más comúnmente desde la línea de base hasta el pico negativo, pero también se puede medir desde el primer pico negativo hasta el siguiente pico positivo (véase Imagen 6) (Preston y Shapiro, 2013; Santos, 2003).

La **duración de los PANS**, se mide habitualmente desde el inicio del potencial hasta el primer cruce de línea de base (es decir, duración de pico negativo), pero también se puede medir desde la deflexión inicial hasta la deflexión terminal hasta la línea de base (véase Imagen 6). La primera es preferible dado que la duración de PANS medida desde la deflexión inicial hasta la deflexión terminal hasta la línea de base es difícil de marcar con precisión, porque el PANS terminal vuelve a la línea de base muy lentamente. La duración de PANS es típicamente mucho más corta que la duración de PAMC. Por lo tanto, la duración suele ser un parámetro útil para

ayudar a identificar un potencial como un verdadero potencial nervioso en lugar de un potencial muscular (Preston y Shapiro, 2013; Santos, 2003).

La **VCN sensitiva**, se calcula de forma directa dividiendo el valor de la distancia (expresada en milímetros) desde el sitio de estimulación al de registro, entre el tiempo (expresado en milisegundos) que transcurre a partir de la aplicación del estímulo eléctrico sobre el nervio sensitivo y la aparición de los PANS en el lugar de registro (Jiménez *et al.*, 2016; Preston y Shapiro, 2013; Santos, 2003).

2.3.3 Polineuropatías axonales y desmielinizantes

Las polineuropatías también pueden ser categorizadas como desmielinizantes (en las cuales la vaina de mielina se rompe) o como axonales (en las que está dañado el axón). Dado el papel que desempeña la vaina de mielina en la conducción saltatoria de los impulsos nerviosos a lo largo de los axones, la VCN en los axones que han perdido esta vaina es lenta, mientras que, en las neuropatías axonales, al no estar dañadas las vainas, la velocidad de conducción suele mantenerse dentro de límites normales.

En las polineuropatías axonales hay hallazgos electrofisiológicos, que predominan en el deterioro axonal como son: la latencia motora distal y VCN motora dentro de límites normales, o en todo caso algo fuera de estos límites, en procesos patológicos severos. Reducida amplitud de los PAMC (de los axones de diámetro grande de conducción rápida) obtenidos en músculos inervados por nervios involucrados en el proceso neuropático, tanto con estimulación distal como proximal, y en casos extremos ausencia de los PAMC, por lo general menores que 0.5 mV. La amplitud de los PAMC se reduce cuando los axones motores se degeneran, pero también se reduce en los bloqueos de conducción distales, en las neuropatías motoras, en las enfermedades de la unión neuromuscular y en las miopatías (Salinas *et al.*, 2008). Los PANS de amplitud muy disminuida, o ausencia total de éstos, mientras que la VCN sensitiva estará solo algo enlentecida, en caso de existir un daño axonal muy severo (véase Cuadro 3) (Kimura, 2013; Santos, 2003).

Cuadro 3. Características neurofisiológicas de las lesiones nerviosas

Estudios de conducción nerviosa	Parámetro electrofisiológico	Daño Axonal	Daño desmielinizante
Conducción del nervio motor	Latencia distal	Normal	Elevada
	Duración	Normal	Dispersa
	Amplitud	Disminuida	Normal o disminuida
	Velocidad de conducción	Normal o un poco más lenta	Más lenta y puede haber bloqueo de la conducción
Conducción del nervio sensitivo	Duración	Normal	Aumentada
	Amplitud	Disminuida o ausente	Normal, disminuida o ausente
	Velocidad de conducción	Normal o ligeramente disminuida	Disminuida

Fuente. Modificado de Pascual, 2007

En las polineuropatías desmielinizantes, los hallazgos electrofisiológicos que predominan son el deterioro de las vainas de mielina y no el daño axonal *per se*, es evidente enlentecimiento de la VCN motora y prolongadas latencias motoras distales; el registro de PAMC son extensos con varias oscilaciones, e incluso con una caída en la amplitud, sobre todo en aquellos PAMC obtenidos con estimulación nerviosa proximal (debido a la elevada dispersión de las velocidades de conducción de las fibras nerviosas individuales). También la VCN sensitiva está muy enlentecida y en la mayoría de los casos, los PANS tienen una amplitud disminuida, por la aumentada dispersión temporal de conducción nerviosa en los axones sensitivos. Una reducción significativa de la VCN por debajo del 70% de límite inferior indica una disminución en la cantidad de la mielina que rodea el nervio, por ejemplo, síndrome de Guillain-Barré, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica y enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (véase cuadro 3) (Kimura, 2013; Valls, 2007; Waxman, 2011).

2.4 Enzimas antioxidantes endógenas

Un antioxidante es toda aquella sustancia que, hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Los antioxidantes al reaccionar con los radicales libres, le ceden un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos. Tienen diferentes mecanismos y sitios de acción mediante los cuales ejercen sus efectos bioquímicos; unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas de oxígeno (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema

barredor) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación). Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios, puede actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción. Los antioxidantes se clasifican en endógenos y exógenos. Los **endógenos** son fabricados por la propia célula y se incluyen: glutatión, coenzima Q, ácido tióctico y enzimas como: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Los **exógenos**, ingresan a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes, como: vitamina E, vitamina C, beta-caroteno, flavonoides y licopeno (Oyenihi *et al.*, 2015).

La **superóxido dismutasa (SOD)** es una enzima que pertenece a la familia de metaloenzimas. Una mutasa es un tipo de enzima que inicia la reorganización de los átomos en una molécula y la función primaria de la SOD es convertir al radical libre superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), un radical libre menos dañino. Entre los radicales libres, el O_2^- es el más poderoso y peligroso. El SOD está presente en todas las células, con una concentración diferente en los distintos tejidos proporcional a la actividad metabólica de cada célula. En humanos existen tres formas de SOD; SOD1 se encuentra en el citoplasma; SOD2 en las mitocondrias y SOD3, en el líquido extracelular. SOD 1 y SOD3 contienen cobre y zinc, mientras que SOD2 tiene manganeso en su centro reactivo. En las mitocondrias, las cuales son las estructuras productoras de energía de la célula, la SOD está presente como una enzima que contiene manganeso. En el citoplasma de la célula, el cobre y el zinc son los metales principales encontrados en la estructura de la SOD. La presencia de la SOD en ambos lugares, en la mitocondria y en el citoplasma asegura que mucho del superóxido sea convertido en H_2O_2 . En general, se han encontrado los niveles más altos en hígado, glándulas suprarrenales, riñón y bazo (Gil, 2010).

La **catalasa** ($2H_2O_2$ oxidoreductasa) es una enzima antioxidante que está presente en la mayoría de las células aeróbicas. La Catalasa (CAT) está implicada en la detoxificación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2), una especie de oxígeno reactivo (ROS), que es un producto tóxico tanto del metabolismo aeróbico normal y la producción de ROS patógeno. Esta enzima cataliza la conversión de dos moléculas de H_2O_2 a oxígeno molecular y dos moléculas de H_2O (agua) (actividad catalítica). La CAT también demuestra su actividad peroxidática, en lo que los alcoholes de bajo peso molecular pueden servir como donadores de electrones. Mientras que los alcoholes alifáticos sirven como sustratos específicos para CAT, otras enzimas con actividad peroxidática no utilizan estos sustratos. En los seres humanos, los niveles más altos de CAT se

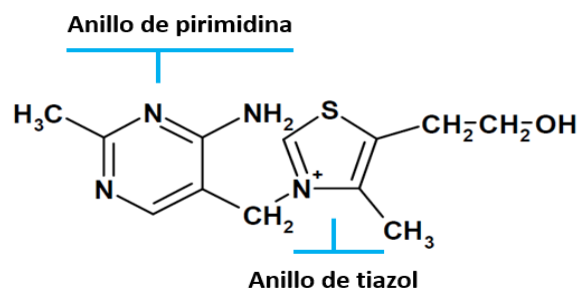
encuentran en el hígado, los riñones y los eritrocitos. Se presenta en forma de hemotetrámero y se localiza en los peroxisomas. La mayoría de las células contienen CAT, aunque en animales abunda en el hígado, el riñón y en los eritrocitos (Gil, 2010).

El **glutatión peroxidasa (GPx)** es una enzima selenio-dependiente, cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno a agua y alcohol, utilizando como agente reductor el glutatión reducido. Existen al menos 3 formas de GPx selenio dependientes que difieren en su ubicación y en su especificidad de sustrato: una forma intracelular o celular, una extracelular o plasmática y otra con actividad específica para los fosfolipoperóxidos, asociados a la membrana celular. El GPx provee un mecanismo para la detoxificación intracelular de peróxidos, papel crucial en la protección celular contra el daño causado por ROS formados por la descomposición del peróxido. Los componentes lipídicos celulares son especialmente susceptibles a reaccionar con los ROS, resultando en la peroxidación lipídica (Gil, 2010).

2.5 Pirofosfato de tiamina

Las vitaminas del complejo B como la B1 (tiamina), B6 (niacina) y B12 (cianocobalamina), participan en el metabolismo de las células del organismo, pero su actividad predominante se ejerce sobre las células del sistema nervioso, por lo que se les ha denominado vitaminas neurotropas. La tiamina o B1 es una vitamina hidrosoluble, constituida por un anillo de pirimidina y un anillo tiazólico, ambos unidos por un puente metileno y con diversos grupos funcionales sustituyentes (véase Imagen 7).

Imagen 7. Estructura química de la tiamina

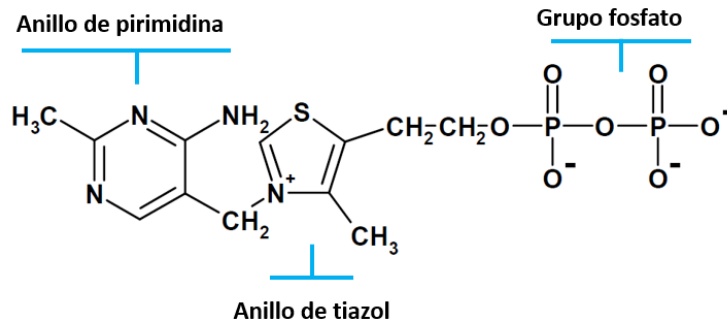


Fuente. Modificado Velázquez *et al.*, 2009

Entre estos grupos, destaca un radical beta-hidroxietilo que puede fosforilarse para originar la forma coenzimática activa, el PPT. La carga positiva del nitrógeno tiazólico confiere un ligero carácter básico a la tiamina, por lo que las formas comerciales de esta vitamina son sales. Esa

carga positiva del nitrógeno facilita la pérdida de un protón en el carbono situado entre el nitrógeno y el azufre, induciendo la formación de un carbanión muy reactivo, que es la base del mecanismo de acción del PPT (véase Imagen 8).

Imagen 8. Estructura química del pirofosfato de tiamina



Fuente. Modificado Velázquez *et al.*, 2009

El resto de la molécula es imprescindible también para la acción biológica de la tiamina, porque las moléculas resultantes de modificaciones leves en su estructura química no solo carecen de actividad, sino que se comportan como antagonistas, como es el caso de la oxtiamina y la piritiamina, dos compuestos sintéticos (Bourges *et al.*, 2005; Kathleen *et al.*, 2013).

La tiamina se absorbe fundamentalmente en el yeyuno mediante transporte activo y dependiente de energía (en dosis bajas) y mediante difusión pasiva (en dosis elevadas, es decir, mayor a 5 mg/día). El transporte activo es inhibido por el consumo de alcohol, que interfiere con el transporte de la vitamina, y por la deficiencia de folato, que interfiere con la replicación de los eritrocitos. Es transportada al hígado por circulación portal, en este órgano se realiza la fosforilación a su coenzima PPT. Aproximadamente, el 80% de la tiamina circulante es transportada en forma de PPT por los eritrocitos y cantidades pequeñas se conservan a través de sus ésteres de fosfato, 10% como trifosfato de tiamina y el resto, como monofosfato de tiamina, unido principalmente a la albúmina. Parte de la tiamina absorbida se almacena en el hígado, cerebro, riñón y corazón, esencialmente en forma de PPT. El contenido corporal en un adulto sano es en promedio de 30 mg/día. Se destruye parcialmente en el organismo y el 20-40% se excreta por la orina, así como en pequeñas cantidades con el sudor. Dicha excreción depende de la dosis y del estado de carencia del organismo; si existe carencia, el organismo retiene la vitamina. La vida media de la tiamina es de 9 a 18 días y debido a que no se almacena en grandes cantidades en ningún tejido, por lo que es indispensable una ingesta continua. Comparada con otras vitaminas, la deficiencia tisular de la tiamina ocurre

relativamente rápido cuando se presenta un consumo insuficiente (Bourges *et al.*, 2005; Kathleen *et al.*, 2013).

La forma funcionalmente activa de la tiamina es el PPT, que interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono como cofactor en la formación de acetil-CoA a partir de piruvato, reacción catalizada por el piruvato deshidrogenasa. También es necesario para la conversión de α -cetoglutarato (formación de succinil-CoA), reacción catalizada por el α -cetoglutarato deshidrogenasa. El PPT actúa en la transcetolasa, cataliza reacciones de intercambio de fragmentos de dos átomos de carbono en la oxidación de la glucosa por la vía de las pentosas-fosfato. Asimismo, participa en el metabolismo de los aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) (Bourges *et al.*, 2005; Kathleen *et al.*, 2013). Se sabe que el PPT, interviene en 24 diferentes reacciones bioquímicas, destacándose su papel en los mecanismos relacionados con la conducción nerviosa de los nervios periféricos (interviene en la formación de mielina), sin modificar los procesos normales, ya que las membranas neurales se repolarizan en tiempos cortos y en la transformación neuromuscular, ya que interviene en la síntesis de acetilcolina (mediador químico neuronal) (Meador *et al.*, 1993).

La presencia del PPT en el metabolismo del hepatocito es indispensable, ya que en él se realiza el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, elementos necesarios para sintetizar sus propias moléculas estructurales. El hígado depende totalmente del PPT para su funcionamiento, si esta coenzima disminuye, el hígado no es capaz de recuperar su metabolismo a menos que se le administre de manera exógena (Parkhomenko *et al.*, 1987). La deficiencia de tiamina puede deberse a una falta de ingesta dietética, malabsorción intestinal, reducción de la capacidad hepática de almacenamiento, reducción de la reabsorción por celular tubulares renales, aumento del catabolismo proteico esquelético y visceral y metabolismo lipídico anormal (Fernandes *et al.*, 2017; Torres y Gutiérrez, 2012). Dicha deficiencia resulta en fatiga, anorexia, molestias gastrointestinales, taquicardia, irritabilidad y síntomas neurológicos. La deficiencia grave conduce a un síndrome conocido como beriberi crónico "seco" y se caracteriza por neuropatía periférica, debilidad muscular y parálisis. El beriberi agudo "húmedo" se manifiesta por insuficiencia cardíaca y edema. También se puede presentar el síndrome de Wernicke-Korsakoff, manifestándose por una desmielinización del sistema nervioso central (Bourges *et al.*, 2005; Kathleen *et al.*, 2013).

La diversidad de mecanismos sinérgicos que implican la deficiencia de tiamina y el alcohol se extiende más allá de su acción sobre el SNC. A un nivel de la farmacocinética, el etanol inhibe las proteínas portadoras presentes en las células duodenales que son esenciales para la

absorción de vitaminas del complejo B (Cravo *et al.*, 1996; Fernandes *et al.*, 2017; Tallaksen *et al.*, 1993). Debido a la actividad del cofactor de tiamina en la piruvato deshidrogenasa, la deficiencia de tiamina interfiere con la síntesis de mielina y, por lo tanto, compromete el cuerpo caloso, una estructura que se sabe que tiene alto contenido de mielina (Cui *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2003).

La enzima transcetolasa dependiente de PPT cataliza reacciones que producen ribosa-5-fosfato y NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) a partir de glucosa-6-fosfato en la vía pentosa-fosfato, y presenta una actividad reducida durante los estados de deficiencia de tiamina. Esto conduce a niveles reducidos de moléculas esenciales que participan en la síntesis de glutatión, que es responsable de convertir el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en H_2O . La producción deteriorada de glutatión resulta en acumulación de H_2O_2 , peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas y daño neuronal (Fernandes *et al.*, 2017).

Debido a la baja disponibilidad por vía oral de la tiamina, es necesario emplear otras formas de administración para aprovechar los beneficios de esta vitamina. Estudios previos con administración de PPT por vía subcutánea, mostraron efectos en la reducción de los niveles de ROS, donde se administró PPT durante 14 meses en ratas Wistar seniles. Estos resultados sugieren que la administración crónica de PPT disminuye la progresión de los cambios tróficos relacionados con la edad mediante la mejora del metabolismo intermediario y el incremento de los niveles de enzimas antioxidantes (Hernández *et al.*, 2014). Al ser una vitamina hidrosoluble, rara vez produce toxicidad, pero puede producirse rash cutáneo o prurito, o sibilancias (reacción anafiláctica, normalmente después de una administración parenteral).

La absorción de la mayoría de los fármacos administrados por vía intramuscular es rápida, el pico de concentración en plasma se obtiene generalmente entre 10 y 30 minutos. La velocidad de absorción del fármaco está determinada principalmente por la vascularización del sitio de la inyección, grado de ionización del fármaco, coeficiente de partición del fármaco, volumen de la inyección y osmolaridad de la solución. Sin embargo, otros factores que afectan la velocidad de la absorción y la captación de otro fármaco administrado simultáneamente si éste altera el aporte sanguíneo o a la permeabilidad capilar en el sitio de la inyección (Gil, 2010).

El X-2 solución inyectable cocarboxilasa o pirofosfato de tiamina (PPT), es un fármaco que se encuentra registrado en la Secretaria de Salud (187M89 SSA), donde se ha reportado que, tras la administración intramuscular, la absorción del PPT, es rápida y completa, en tanto que la absorción intestinal es limitada con un máximo diario de 8 a 15 mg. La dosis que se recomienda

por vía intramuscular profunda y muy lenta de 3 a 5 ml cada tercer día a juicio del médico. También se puede aplicar por vía intravenosa: un frasco completo de 35 ml disuelto en 150 ml de solución fisiológica para pasarse en una hora como mínimo, de 1 a 2 veces por semana según sea el caso.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Analizar el efecto del pirofosfato de tiamina sobre la velocidad de conducción nerviosa de miembros inferiores y el estado antioxidante en pacientes con polineuropatía diabética.

3.2 Objetivos específicos

1. Medir la velocidad de conducción nerviosa en la población de estudio tratada con pirofosfato de tiamina.
2. Determinar la actividad antioxidante de la enzima superóxido dismutasa y el perfil bioquímico antes y después del tratamiento en la población de estudio.

4. HIPÓTESIS

La administración intramuscular de 1 mg/kg de peso corporal/semanal de pirofosfato de tiamina durante tres meses, en pacientes con polineuropatía diabética, mejorará la velocidad de conducción nerviosa en miembros inferiores y modificará los niveles de la actividad antioxidante de la enzima superóxido dismutasa.

5. METODOLOGÍA

5.1 Diseño del estudio

El presente estudio fue un estudio clínico de intervención, controlado, pre-test/post-test, en el cual se incluyeron pacientes con polineuropatía diabética (PND) en miembros inferiores, determinado clínicamente por el Test de Michigan. Se asignaron dos grupos de estudio de acuerdo al tiempo de diagnóstico de la DM2: **Grupo I** pacientes con 1 a 10 años de evolución y el **Grupo II**, de 11 a 20 años. La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Clínica del Sistema Nervioso, de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.2 Selección de la población de estudio

Para los criterios de inclusión, se reclutaron sujetos de clínicas públicas y privadas con diagnóstico de DM2 y que tuvieran entre 1 y 20 años de la enfermedad, de ambos sexos, entre 40 a 80 años de edad. Diagnosticados clínicamente con polineuropatía diabética de miembros inferiores mediante el Test de Michigan (The Michigan Neuropathy Screening Instrument, MNSI). Con tratamiento médico regular (hipoglucemiantes orales, dieta, ejercicio, insulina, etc.). Se excluyeron pacientes que no contaban con control regular con su médico; que tuvieran alteraciones de miembros inferiores (edema, amputación, prótesis, marcapasos, etc.) que imposibilitaran la realización de los estudios de conducción nerviosa; también aquellos con antecedentes de alcoholismo crónico, con insuficiencia renal y/o hepática, así como los alérgicos al complejo B.

Se eliminaron pacientes, que no completaron las evaluaciones previstas en el proyecto y los que presentaron alteraciones en la salud que impidan su participación en el estudio de investigación.

5.3 Tamaño de la muestra

Se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia, se incluyeron a todos los pacientes que tuvieron entre 1 y 20 años de diagnóstico de DM2 y que aceptaron participar en dicho estudio.

5.4 Mediciones y análisis

5.4.1 Aplicación Test de Michigan

A los pacientes se les aplicó el Test de Michigan (The Michigan Neuropathy Screening Instrument, MNSI) (Feldman *et al.*, 1994; Herman *et al.*, 2012), de forma pre y post tratamiento. Esta herramienta de diagnóstico consta de dos partes, la primera parte, es una autoevaluación de 15 preguntas sobre la sensibilidad de los pies y piernas y la presencia de síntomas de la polineuropatía diabética y no influye en la calificación. Sin embargo, una puntuación ≥ 7 puntos (escala de 0 a 13 puntos) en el cuestionario se considera como anormal. La segunda parte, es un examen de exploración física que incluye, la sensibilidad táctil con un monofilamento de Semmes-Weinstein; la percepción de la vibración con un diapasón de 128 Hz (hercios) y el reflejo aquileo con un martillo. Para el diagnóstico de

PND, se evaluó con una puntuación ≥ 2 puntos (escala de 0 a 10 puntos) en el examen físico (Boyras *et al.*, 2010). La PND se confirma en los pacientes con una valoración positiva en la puntuación del Test de Michigan junto con los estudios de conducción nerviosa (Feldman *et al.*, 1994; Herman *et al.*, 2012). El examen físico se realizó para ambos miembros inferiores y se efectuaron 5 pruebas: 1) Apariencia de pies; 2) Ulceración; 3) Reflejo del tobillo o alquiliano; 4) Percepción de la vibración del dedo gordo y 5) Monofilamento (véase Anexo 2).

1) En la apariencia de pies, se evaluó la deformidad (dedos de martillo, dedos sobrepuestos, hallux valgus, subluxación de la articulación, cabeza metatarsal prominente, convexidad medial (pies de Charcot), piel seca, infección y grietas. Se asignó un valor de 1 punto si presentaba alguna lesión de las mencionadas, si es normal se calificó como 0 puntos (véase Imagen 9).

Imagen 9. Apariencia del pie



2) En la ulceración en el pie se observó presencia de llagas abiertas o agujeros color rojo en la superficie de la piel. Se asignó un valor de 1 punto si la ulceración estuvo presente y 0 puntos ausente (véase Imagen 10).

Imagen 10. Úlceras del pie



3) Reflejo de tobillo, se efectuó percutiendo el tendón de Aquiles con ayuda de un martillo. Si se obtiene reflejo, se calificó como presente con valor de 0 puntos, presente con reforzamiento con valor 0.5 puntos y si estaba ausente con valor 1 punto (véase Imagen 11).

Imagen 11. Técnica reflejo de tobillo



4) Monofilamento de Semmes-Weinstein: es una herramienta no invasiva, rápida y fácil de usar que ayuda a identificar a los pacientes con alto riesgo de ulceración o amputación. Los monofilamentos son fibras de nylon calibradas de forma que su aplicación sobre la piel corresponde a una fuerza previamente determinada, la cual es independiente de la curvatura generada por la presión (Mendoza *et al.*, 2013). Se coloca el filamento de nylon unido a un mango, éste se situó perpendicularmente a la piel del paciente y se ejerció presión sobre un punto de exploración hasta que mostrara incurvación; cada aplicación tuvo una duración aproximada de 1.5 segundos.

Se evaluó la sensación protectora en 10 sitios del pie: primer, tercer y quinto dedo del pie (sitio 1, 2, 3), cabeza metatarsiana del primero, tercero y quinto dedo (sitio 4, 5, 6), arco plantar interno y externo (sitio 7, 8) y talón (sitio 9,10) (Lee *et al.*, 2003). La valoración de estas zonas del pie provee una representación de diferentes nervios periféricos y dermatomas (Lee *et al.*, 2003; Mendoza *et al.*, 2013). Se le pidió al paciente que cerrara los ojos y fue instruido para que respondiera “Sí” cada vez que percibiera la aplicación del monofilamento. El umbral se determinó con base al número de respuestas positivas con un total de 10 aplicaciones. A 10 respuestas correctas de 10 aplicaciones se considera normal (valor de 0 puntos); de 1 a 7 respuestas correctas indica sensación reducida (valor de 0.5 puntos) y ninguna respuesta correcta se traduce en sensación ausente (valor de 1 punto) (véase Imagen 12).

5) En la percepción de la vibración, se colocó la base de un diapasón de 128 Hz vibrando sobre el primer dedo del pie (dedo gordo) utilizando el tiempo de 5 segundos como rango para verificar si estaba disminuida la vibración. La percepción vibratoria se calificó como presente con valor 0 puntos, disminuido con valor 0.5 puntos y ausente con valor 1 punto (véase Imagen 13).

Imagen 12. Técnica de monofilamento

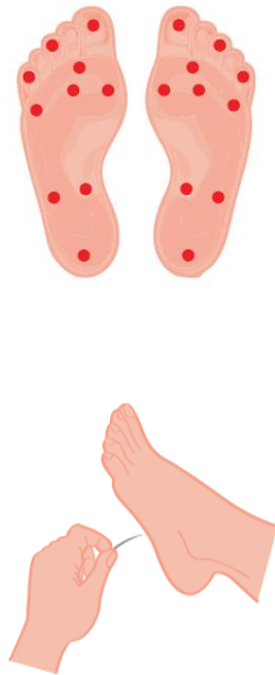
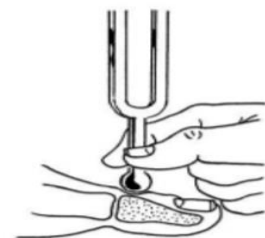


Imagen 13. Técnica de la vibración



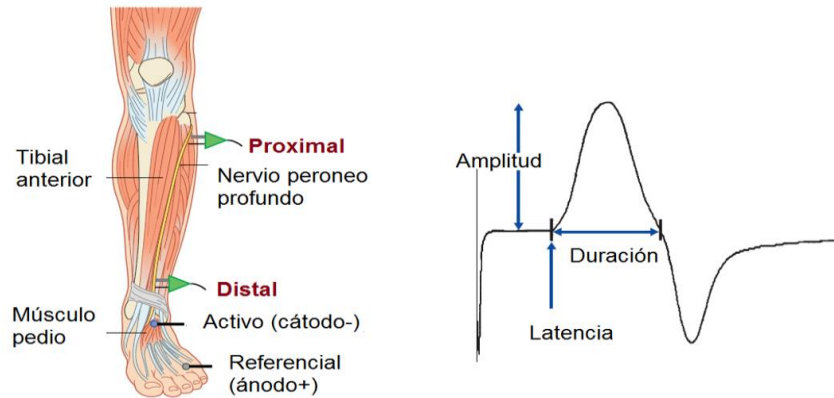
5.4.2 Estudios de conducción nerviosa

Se realizaron estudios de conducción nerviosa (ECN) (equipo, Neuronic 5, Mexicana S.A. de C.V.) en nervios motores y sensitivos en ambos miembros inferiores (pie izquierdo y derecho) antes y después de tres meses del tratamiento con pirofosfato de tiamina. Los parámetros que se evaluaron fueron latencia, duración, amplitud del potencial y velocidad de conducción nerviosa; los resultados obtenidos fueron analizados con referencia a normas internacionales de Kimura (Kimura, 2013). Cuando dos o más nervios eran anormales, la conducción nerviosa se consideró anormal si algún parámetro electrofisiológico (amplitud, latencia, velocidad de conducción) no se encontraba dentro de los límites normales (Kimura, 2013).

En la realización de los ECN, se realizó limpieza en ambos pies del paciente con una torunda de alcohol. Posteriormente, se colocaron electrodos de superficie, de recepción y de estimulación, sobre la piel del paciente. Se aplicó un gel conductor sobre la piel del paciente para disminuir la impedancia o resistencia de los electrodos y mejorar la calidad del registro. Con el paciente preparado y los electrodos colocados en el lugar correspondiente se aplicaron estímulos eléctricos (como una pequeña descarga eléctrica) de intensidad y duración variables. Las intensidades de corriente empleadas fueron menores de 16 mA (miliamperios) en los ECN sensitiva y entre 45 a 60 mA en los ECN motora. Las respuestas generadas fueron registradas en el osciloscopio e interpretadas por el médico neurofisiológico. Para garantizar la uniformidad de las mediciones se obtuvo una temperatura ambiente de 26 a 32°C.

Para neuroconducción motora, se analizó el nervio peroneo profundo con estimulación distal en el maléolo tibial y proximal debajo de la cabeza del peroné. Se empleó una intensidad supramáxima de 45 a 60 mA, frecuencia de 1 Hz (hercios), velocidad de barrido de 1 ms/división (véase Imagen 14). Se midió el tiempo de registro que tarda el impulso eléctrico en desplazarse de la estimulación hasta el sitio de registro, este valor se denominó la latencia y se midió en milisegundos (ms). Los cálculos se realizaron utilizando la distancia entre los sitios de estimulación (mm) y la diferencia de las latencias (ms) y su relación representa la velocidad de conducción nerviosa (VCN) en metros por segundo (m/s).

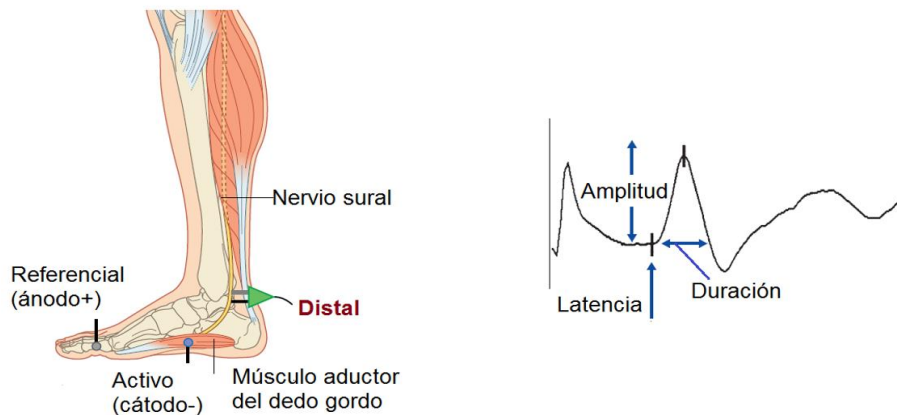
Imagen 14. Estimulación distal y proximal del nervio peroneo



Fuente. Modificado de Fitzgerald et al., 2012

En neuroconducción sensitiva, se analizó el nervio sural, con estimulación distal en el maléolo lateral y se empleó una intensidad supramáxima de 16 mA, frecuencia de 1 Hz y velocidad de barrido de 1 ms/división (véase Imagen 15).

Imagen 15. Estimulación distal del nervio sural



Fuente. Modificado de Fitzgerald et al., 2012

5.4.3 Obtención de la muestra sanguínea

A todos los sujetos de estudio, se les tomaron muestras antes y después del tratamiento con PPT. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas después de un período de ayuno de 8-12 horas, por punción venosa. La sangre fue colectada en tubos al vacío, sin y con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y centrifugada por 10 minutos a 3,000 rpm para separar el suero, del paquete globular. Una alícuota de suero fue utilizada para estimar la concentración de los analitos de química sanguínea y lipídico, mientras que el resto fue almacenado a -80 °C

hasta su procesamiento para las demás determinaciones. Las muestras fueron marcadas con números exclusivos para evitar sesgos en los análisis de laboratorio. Todas las determinaciones fueron realizadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Departamento de Investigación Biomédica de la Facultad de Medicina de la UAQ.

5.4.4 Administración del pirofosfato de tiamina

El tratamiento consistió en aplicar por vía intramuscular entre 1.1 a 2.0 mL (mililitros) de PPT (concentración 40 mg/mL) estable en solución, una vez a la semana y durante tres meses. Cada paciente recibió una dosis de 1mg/kg de peso corporal, por lo cual la cantidad de mililitros del PPT fue ajustada cada mes de tratamiento.

Cálculo de ml de la administración del PPT
Datos del paciente 60 kg peso corporal
→**Dosis del medicamento** 1 mg/kg peso corporal
→**Presentación del medicamento**
PPT (Clorhidrato de tiamina) 40 mg
Vehículo cbp 1 ml
Frasco con 35 ml
60 mg necesita el paciente ----- X= 1.5 ml
40 mg contenido del frasco -----1ml

5.4.5 Determinación del perfil bioquímico

En el Analizador Automático Random Access A15 (BioSystems, España) se midieron la glucosa plasmática, colesterol total, lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), triglicéridos, urea, creatinina y ácido úrico.

5.4.6 Determinación de actividad antioxidante

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) se determinó con el SOD Assay Kit-WST 19160 (Sigma-Aldrich). La actividad de SOD es basada en la habilidad de catalizar la dismutación del anión superóxido (O_2^-), en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular. Se determinó mediante un método indirecto basado en xantina oxidas y que usa el nitrozul de tetrazolio (NBT) se usa comúnmente debido a su conveniencia y facilidad de uso. El SOD Assay Kit-WST permite un análisis de SOD muy conveniente al utilizar la sal de tetrazolio altamente soluble en agua de Dojindo, el WST-1 (2- (4-yodofenil) -3- (4-nitrofenil) -5- (2,4-disulfofenil) 2H-

tetrazolio, sal monosódica) que produce un tinte formazano soluble en agua tras la reducción con el anión superóxido. La velocidad de reducción de WST-1 con O_2 . Está relacionada linealmente con la actividad xantina oxidasa (XO), y esta reducción es inhibida por SOD. Por lo tanto, la IC50 (50% de actividad de inhibición de SOD o materiales parecidos a SOD) pueden determinarse mediante el método colorimétrico (archivado de patentes).

La concentración de SOD en las muestras se expresó en U/ml, extrapolando la absorbancia de las muestras en la curva de calibración que se realizó previamente. Los resultados se expresaron en la concentración de la enzima en U/ml y en % de inhibición de la enzima SOD. Para la realización de la curva estándar de SOD, las soluciones se adicionaron en el siguiente orden: estándar de SOD (200, 100,50, 20, 10, 5, 1, 0.1, 0.05, 0.01 y 0.001 U/ml de SOD), solución de trabajo WST (véase Anexo 3) y solución de enzima de trabajo (véase Anexo 3). La reacción se inició con la adición de este último reactivo y se incubó por 20 min a 37°C. Las muestras se leyeron inmediatamente por espectrofotometría a una longitud de onda de 450 nm a 25 °C en el lector de microplacas modelo Versa Max Turnable Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

5.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos para los distintos parámetros electrofisiológicos, clínicos, bioquímicos, etc., se expresaron con media y desviación estándar. Debido a que el tamaño de la muestra es < 50 se recomienda emplear pruebas de normalidad para evaluar la existencia de diferencias en los grupos de pacientes respecto a su estado previo y posterior al tratamiento. Para la estimación de la normalidad se emplearon pruebas estadísticas de test D'Agostino & Pearson omnibus, Shapiro-Wilk y KS normality test (se basan en la correlación entre los datos y las puntuaciones correspondientes normales) (Ghasemi y Zahediasl., 2012). Si pasaron las pruebas de normalidad se utilizó una T pareada paramétrica, una cola; si no pasó la normalidad se empleó una T pareada no paramétrica de Wilcoxon de rangos, una cola. Para la evaluación de las pruebas se usó el paquete estadístico de GraphPad Prism 7. Valores de $p < 0.05$ (95%) y $p < 0.01$ (99%) fueron considerados estadísticamente significativos.

5.6 Bioética

El proyecto fue aprobado el 8 de mayo de 2014, por el consejo de Bioética de la Facultad de Medicina de la UAQ y se apega a las normas de investigación establecidas del Helsinki y las vigentes en México, publicadas en el diario de la federación. Por lo que el presente proyecto, se desprende del proyecto general “Efecto de la administración del pirofosfato de tiamina (PPT) en la valoración clínica y velocidad de conducción nerviosa en pacientes con polineuropatía diabética” que ya fue aprobado, por lo cual, no requiere una nueva evaluación y está avalado por la aprobación del proyecto inicial (véase Anexo 4).

6. RESULTADOS

6.1 Características de los grupos de estudios

Se estudiaron 30 pacientes con polineuropatía diabética (PND), diagnosticados mediante el Test de Michigan (MNSI), los cuales no suspendieron su tratamiento con hipoglucemiantes orales, con insulina o combinado. Se asignaron dos grupos de estudio de acuerdo al tiempo de diagnóstico de la DM2, Grupo I (n=15) pacientes con 1 a 10 años y el Grupo II (n=15), de 11 a 20 años. El **Grupo I**, estuvo conformado por 10 (67%) mujeres y 5 (33 %) hombres; la edad media fue de 57.7 ± 6.35 y el tiempo de la DM2 fue de 5.27 ± 2.66 . Para el **Grupo II**, se tuvieron 6 (40 %) mujeres y 9 (60 %) hombres; la media de edad fue de 58.4 ± 8.9 y de la DM2 fue de 13.5 ± 3.36 (véase Tabla 1).

Tabla 1. Características basales de los pacientes con DM2 diagnosticados clínicamente con Polineuropatía Diabética

	Grupo en general	Grupo I (1 a 10 años DM2)	Grupo II (11 a 20 años DM2)
N	30	15	15
Género (Femenino/Masculino)	16 (53 %) 14 (47 %)	10 (67 %) 5 (33%)	6 (40%) 9 (60%)
Edad (años)	58.10 ± 7.61	57.70 ± 6.35	58.40 ± 8.90
Diagnóstico de la DM2 (años)	9.40 ± 5.15	5.27 ± 2.66	13.5 ± 3.36
Peso (kg)	72.6 ± 11.20	73.3 ± 11.20	71.9 ± 11.60
Talla (m)	159 ± 9.68	159 ± 9.02	159 ± 10.60
IMC (kg/m ²)	28.60 ± 3.46	28.90 ± 3.48	28.40 ± 3.54
Tratamiento con hipoglucemiantes orales	30	15	15
Tratamiento solo con insulina	0	0	0
Tratamiento combinado hipoglucemiantes orales e insulina	8	3	5

Los valores se expresan con media \pm desviación estándar (Porcentaje del total de la población)

En el Test de Michigan, se considera en la exploración física de ambos miembros inferiores una puntuación mayor de 2.0 puntos para el diagnóstico de PND y en la parte de cuestionario, una puntuación mayor a 13 puntos se considera anormal. El puntaje promedio inicial del examen de exploración física del MNSI para la población estudiada fue de 3.17 ± 1.12 , mientras que el puntaje del cuestionario MNSI fue de 4.23 ± 2.47 . Después de los tres meses de tratamiento con PPT, se volvió aplicar el test y se encontró que el puntaje de la exploración física tuvo cambios significativos de 2.73 ± 0.94 ($p < 0.0101$ *) y del cuestionario de 3.90 ± 2.02 (véase Tabla 2).

Tabla 2. Evaluación pre y post del Test de Michigan

Pruebas del MNSI	Grupo en general (1 a 20 años DM2) n=30			Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15			Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15		
	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor
Exploración física	3.17 ± 1.12 (2-6)	2.73 ± 0.94 (2-5.5)	0.0101 *	2.93 ± 1.21 (2-6)	2.70 ± 0.97 (2-5.5)	0.1094	3.40 ± 1.02 (2-5)	2.77 ± 0.94 (2-4.5)	0.0625
Cuestionario	4.23 ± 2.47 (0-9)	3.90 ± 2.02 (1-10)	0.6022	3.13 ± 2.33 (0-8)	4.13 ± 2.03 (1-10)	0.0654	5.33 ± 2.16 (2-9)	3.67 ± 2.06 (1-8)	0.0126 *

Los valores se expresan con media ± desviación estándar
(Valor mínimo- valor máximo)

El ** representa nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

Respecto al **Grupo I** (n=15), el puntaje promedio Pre-test de exploración física fue de 2.93 ± 1.21 (véase Tabla 2), de los cuales se tuvieron puntuaciones de ≥ 2.0 (n=3), ≥ 2.5 (n=8), ≥ 3.0 (n=1), ≥ 3.5 (n=1), ≥ 5.5 (n=1) y ≥ 6.0 (n=1). En la evaluación Post-test no se tuvieron diferencias significativas, el puntaje promedio de exploración física fue de 2.70 ± 0.97, de los cuales las puntuaciones fueron ≥ 2.0 (n=6), ≥ 2.5 (n=5), ≥ 3.0 (n=1), ≥ 3.5 (n=1), ≥ 4.0 (n=1) y ≥ 5.5 (n=1). En la parte del cuestionario, el promedio fue de 3.13 ± 2.33, las puntuaciones fueron a partir de 0 (n=2), 1 (n=2), 2 (n=3), 3 (n=2), 4 (n=1), 5 (n=3), 6 (n=1) y 8 (n=1). En la evaluación Post-test no se tuvieron diferencias significativas, la puntuación promedio fue de 4.13 ± 2.03, las puntuaciones fueron de 1 (n=1), 2 (n=1), 3 (n=4), 4 (n=3), 5 (n=5) y 10 (n=1).

En el **Grupo II** (n=15), respecto a la exploración física Pre-test la media fue de 3.40 ± 1.02 (véase Tabla 2), las puntuaciones fueron de ≥ 2.0 (n=2), ≥ 2.5 (n=4), ≥ 3.0 (n=1), ≥ 3.5 (n=1), ≥ 4.0 (n=3), ≥ 4.5 (n=3) y ≥ 5 (n=1). En la evaluación Post-test no se tuvieron diferencias significativas, el puntaje promedio de exploración física fue de 2.77 ± 0.94, de los cuales se obtuvieron puntuaciones ≥ 2.0 (n=7), ≥ 2.5 (n=3), ≥ 3.5 (n=1), ≥ 4.0 (n=3) y ≥ 4.5 (n=1). En la parte del cuestionario Pre-test, el promedio fue de 5.33 ± 2.16, las puntuaciones fueron a partir de 2 (n=1), 3 (n=2), 4 (n=2), 5 (n=2), 6 (n=2), 7 (n=2), 8 (n=2) y 9 (n=1). En la evaluación Post-Test se tuvieron diferencias significativas, la puntuación promedio fue de 3.67 ± 2.06 (p<0.0126 *), las puntuaciones fueron a partir de 1 (n=1), 2 (n=5), 3 (n=2), 4 (n=3), 5 (n=1), 6 (n=1), 7 (n=1) y 8 (n=1).

En las frecuencias de la sintomatología de los pacientes, en el **Grupo I** (n=15) se observa que inicialmente predominaron debilidad 67%, entumecimiento en miembros inferiores 47%, ardor 50%, pies demasiado sensibles al tacto 47% y síntomas que empeoran en las noches 47%. Para el **Grupo II** se manifestaron entumecimiento en pies y piernas 80%, ardor en pies y piernas 80%, calambres 60%, sensación de pinchazos 67%, debilidad la mayor parte del tiempo 60%, dolor al deambular 53% y los síntomas que empeoran por las noches 60%.

Tabla 3. Frecuencia de sintomatología que presentaron los pacientes

Síntomas	Respuesta	Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15		Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15	
		Pre-test	Post-test	Pre-test	Post-test
Entumecimiento en pies y piernas	Si	47 % (7)	27 % (4)	80 % (12)	20 % (3)
	No	53 % (8)	73 % (11)	20 % (3)	80 % (12)
Ardor, dolor en pies y piernas	Si	50 % (6)	33 % (5)	80 % (12)	27 % (4)
	No	60 % (9)	67 % (10)	20 % (3)	73 % (11)
Pies demasiado sensibles al tacto	Si	47 % (7)	53 % (8)	47 % (7)	60 % (9)
	No	53 % (8)	47 % (7)	53 % (8)	40 % (6)
Calambres en pies y piernas	Si	47 % (7)	20 % (3)	60 % (9)	60 % (9)
	No	53 % (8)	80 % (12)	40 % (6)	40 % (6)
Sensación de pinchazos en pies y piernas	Si	33 % (5)	13 % (2)	67 % (10)	20 % (3)
	No	67 % (10)	87 % (13)	33 % (5)	80 % (12)
Debilidad la mayor parte del tiempo	Si	67 % (10)	20 % (3)	60 % (9)	20 % (3)
	No	33 % (5)	80 % (12)	40 % (6)	80 % (12)
Síntomas empeoran por las noches	Si	47 % (7)	20 % (3)	60 % (9)	40 % (6)
	No	53 % (8)	80 % (12)	40 % (6)	60 % (9)
Dolor al deambular	Si	33 % (5)	40 % (6)	53 % (8)	33 % (5)
	No	67 % (10)	60 % (9)	47 % (7)	67 % (10)

Los valores se expresan con porcentaje (número de pacientes)

Con los resultados obtenidos se infiere que después del tratamiento con PPT, hubo disminución en la sintomatología de ardor y dolor en piernas y pies, calambres, entumecimiento, sensación de pinchazos, dolor al deambular y debilidad. En lo que concierne a la parte de exploración física se tuvieron cambios en la sensibilidad táctil, la percepción de la vibración y el reflejo aquileo. Por lo tanto, el Test de Michigan es una herramienta de diagnóstico validado para la PND con una fuerte correlación con los parámetros electrofisiológicos. Su aplicación en la clínica puede ayudar a identificar y seguir a los pacientes en riesgo de PND (Muntean, 2016).

6.2 Estudios de Conducción Nerviosa

Se realizaron Estudios de Conducción Nerviosa Motora del nervio peroneo profundo en ambos miembros inferiores. También se efectuaron Estudios de Conducción Nerviosa Sensitivo del nervio sural en miembros inferiores izquierdo y derecho. Se analizaron los parámetros electrofisiológicos de latencia, duración, amplitud y velocidad de conducción nerviosa. Para la interpretación de los resultados se hicieron respecto a valores normales de referencia internacional, debido a que no se cuenta con valores de referencia estándar para la población mexicana (Kimura, 2013). Si bien la PND se diagnostica clínicamente en síntomas y signos específicos en el examen médico, hay varias pruebas que se utilizan para confirmar la PND y para calificar su gravedad, la velocidad de conducción nerviosa (VCN) sigue siendo el patrón de oro para el diagnóstico de la PND ya que la mayoría de los pacientes con PND tienen una VCN anormal. Los resultados de los estudios de conducción de este estudio muestran valores anormales mostrando una disminución en la VCN y la reducción en la amplitud de los potenciales de acción, tanto sensitivo como muscular.

Estudios de Conducción Nerviosa Sensitivo. A la estimulación distal del nervio sural del miembro inferior izquierdo y derecho se obtuvieron Potenciales de Acción Sensitivo (PAS) con latencias, amplitudes, duraciones y velocidades de conducción con valores anormales (véase Tabla 4).

Tabla 4. Cambios en los parámetros electrofisiológicos en extremidades inferiores del nervio sural durante el estudio

Parámetro electrofisiológico	Miembro inferior	Grupo en general (1 a 20 años DM2) n=30			Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15			Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15		
		Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor
Latencia distal (ms)	Izquierdo	3.07 ± 0.38	3.22 ± 0.57	0.7809	3.03 ± 0.42	3.14 ± 0.63	0.7500	3.09 ± 0.38	3.31 ± 0.53	0.8786
	Derecho	2.93 ± 0.59	3.36 ± 0.75	0.2356	2.74 ± 0.53	3.13 ± 0.80	0.3828	2.98 ± 0.38	3.54 ± 0.60	0.2770
Duración distal (ms)	Izquierdo	1.80 ± 0.42	2.13 ± 0.61	0.0195 *	2.00 ± 0.60	2.15 ± 0.63	0.1369	1.68 ± 0.27	2.11 ± 0.62	0.0938
	Derecho	2.13 ± 0.55	1.97 ± 0.60	0.5416	2.06 ± 0.56	2.01 ± 0.50	0.5693	2.30 ± 0.56	1.96 ± 0.76	>0.9999
Amplitud distal (µV)	Izquierdo	3.57 ± 1.19	4.09 ± 1.79	0.3816	3.83 ± 1.57	4.48 ± 2.15	0.1563	3.42 ± 1.03	3.70 ± 1.35	0.5883
	Derecho	4.41 ± 1.54	4.01 ± 1.77	0.6765	5.12 ± 1.42	4.42 ± 2.14	0.6257	3.78 ± 1.03	3.74 ± 0.92	0.8714
Velocidad de conducción nerviosa (m/s)	Izquierdo	41.70 ± 7.47	45.70 ± 7.79	0.0054 **	41.68 ± 9.49	47.75 ± 8.43	0.2500	41.70 ± 6.91	43.70 ± 6.92	0.0495 *
	Derecho	44.10 ± 7.23	47.80 ± 8.62	0.0015 **	44.64 ± 7.95	50.10 ± 10.38	0.0078 **	42.10 ± 6.38	44.30 ± 4.93	0.2773

Los valores se expresan con media ± desviación estándar. ** Nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

En lo que respecta, a los parámetros electrofisiológicos de latencia y amplitud, no hubo diferencias significativas entre los grupos de estudios antes y después del tratamiento con PPT. Sin embargo, la amplitud del PAS se correlaciona bien con la densidad de las fibras mielinizadas y se encontró ligeramente disminuida en ambos grupos de estudio. En el grupo en general, el parámetro electrofisiológico de duración aumentó significativamente después del tratamiento con PPT (véase Tabla 4).

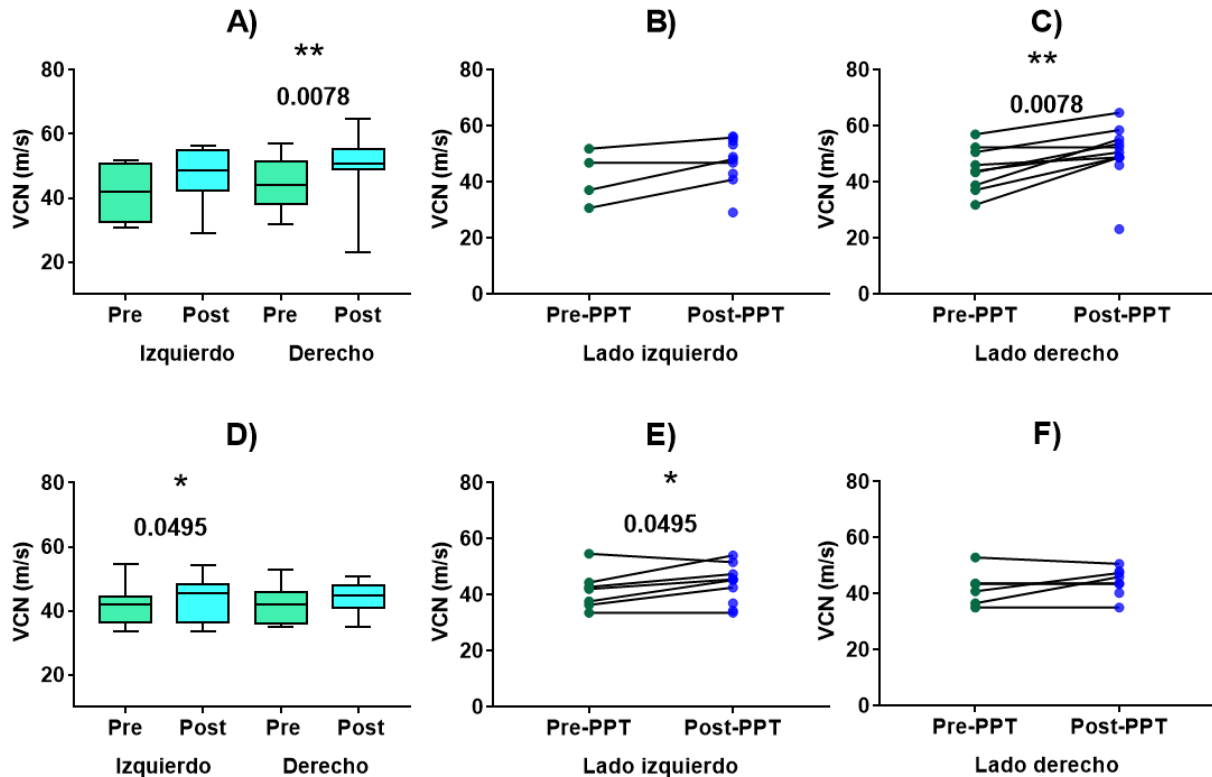


Figura 1. Velocidad de conducción nerviosa (VCN) del nervio sural en miembros inferiores izquierdo y derecho, pre y postratamiento con pirfosfato de tiamina (PPT). A, B y C) Grupo I n=15 (1 a 10 DM2) y D, E y F) Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). Se empleó una prueba no paramétrica de Wilcoxon (Grupo I) y T pareada paramétrica (Grupo II). El ** representa nivel de significación al 99% ($p < 0.01$) y * al 95 % ($p < 0.05$).

Los resultados obtenidos, mostraron que en ambos grupos hay una anomalía en la VCN, esto es coherente con estudios previos, donde los estudios de VCN han sido aceptados como diagnóstico de la PND (Sultana, 2010). Además, en los pacientes se encontraron daños axonales que afectan la respuesta en la VCN. La VCN se encontraba enlentecida al inicio en ambos grupos de estudio. Después del tratamiento con PPT se tuvieron diferencias

significativas por grupo en general y en comparación con los Grupos I y II, demostrando una mejora en la VCN en miembros inferiores. En la **Figura 1**, respecto al **Grupo I** se tuvieron resultados significativos en la mejora de la VCN del lado derecho Pre-PPT de 44.64 ± 7.95 m/s y Post-PPT de 50.10 ± 10.38 m/s ($p < 0.0078$ **); en el **Grupo II**, se tuvieron diferencias significativas en el lado izquierdo Pre-PPT de 41.70 ± 6.91 m/s y Post-PPT de 43.70 ± 6.92 m/s ($p < 0.0495$ *).

Estudio de Conducción Nerviosa Motora. A la estimulación distal y proximal del nervio peroneo profundo del miembro inferior izquierdo y derecho se obtuvieron PAMC. Se obtuvieron PAMC distales y proximales con amplitudes, latencias, duraciones y velocidades de conducción con valores anormales, coincidiendo completamente con los hallazgos clínicos. Por ello, la latencia motora distal, se puede encontrar normal o sólo ligeramente retardada como se muestra en ambos grupos de estudio (véase Tabla 5). En el presente estudio, el deterioro de la función nerviosa motora se encuentra en ambos grupos de tanto de menor como de mayor evolución de la DM2. Este hallazgo es relacionado con los resultados de Fagerberg *et al*, y Gregersen, que informaron que los defectos motores son comunes en los diabéticos con neuropatía y aumenta la frecuencia con la duración de la enfermedad (Fagerberg *et al.*, 1963; Gregersen, 1967).

Tabla 5. Cambios en los parámetros electrofisiológicos en extremidades inferiores del nervio peroneo motor durante el estudio.

Parámetro Electrofisiológico	Miembro inferior	Grupo en general (1 a 20 años DM2) n=30			Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15			Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15		
		Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor
Latencia proximal (ms)	Izquierdo	12.10 ± 2.48	11.50 ± 1.55	0.2417	11.70 ± 1.97	11.30 ± 1.56	0.4109	12.50 ± 2.97	11.70 ± 1.57	0.3594
	Derecho	11.50 ± 2.22	11.70 ± 2.49	0.1189	11.50 ± 2.23	11.50 ± 1.75	0.9649	11.40 ± 2.41	11.90 ± 3.28	0.4375
Latencia distal (ms)	Izquierdo	4.77 ± 1.29	4.43 ± 0.97	0.1264	4.82 ± 1.09	4.40 ± 0.90	0.1838	4.72 ± 1.53	4.47 ± 1.08	0.5469
	Derecho	4.58 ± 1.82	4.56 ± 1.47	0.9032	4.29 ± 0.69	4.42 ± 1.04	0.8895	5.02 ± 2.85	4.74 ± 1.92	>0.9999
Duración proximal (ms)	Izquierdo	8.38 ± 1.85	9.34 ± 1.82	0.0319 *	7.65 ± 2.0	8.69 ± 2.13	0.1055	8.66 ± 2.01	9.73 ± 1.54	0.0819
	Derecho	90.9 ± 2.30	9.65 ± 2.95	0.7609	8.94 ± 2.30	9.60 ± 3.52	0.9102	9.32 ± 2.50	9.72 ± 2.19	0.4458
Duración distal (ms)	Izquierdo	8.91 ± 1.87	9.12 ± 2.36	0.9062	9.30 ± 1.98	8.94 ± 2.81	0.4926	8.82 ± 1.76	9.29 ± 1.90	0.2422
	Derecho	9.56 ± 2.60	9.47 ± 2.52	0.5278	9.56 ± 2.50	9.54 ± 2.54	0.7578	9.55 ± 2.98	9.38 ± 2.63	0.4375
Amplitud proximal (µV)	Izquierdo	2.17 ± 0.98	2.96 ± 1.34	0.0094 **	2.11 ± 0.94	2.87 ± 1.33	0.1934	2.23 ± 1.07	3.06 ± 1.40	0.0273 *
	Derecho	2.16 ± 0.82	2.17 ± 0.97	0.2293	2.15 ± 0.96	2.31 ± 0.95	0.0039 **	2.17 ± 0.65	1.97 ± 1.02	>0.9999
Amplitud distal (mV)	Izquierdo	2.05 ± 0.93	2.16 ± 1.02	0.4304	1.97 ± 0.82	2.15 ± 0.86	0.3223	2.14 ± 1.07	2.18 ± 1.20	0.7695
	Derecho	2.14 ± 0.84	2.04 ± 0.71	0.2676	2.09 ± 0.88	1.96 ± 0.54	0.4258	2.21 ± 0.87	2.15 ± 0.90	0.4375
Velocidad de conducción nerviosa (m/s)	Izquierdo	52.90 ± 4.47	57.30 ± 5.88	<0.0001 ****	54.10 ± 2.87	58.80 ± 4.93	0.0019 **	51.80 ± 5.56	55.70 ± 6.51	0.0039 **
	Derecho	49.50 ± 8.72	53.70 ± 8.0	0.0028 **	51.80 ± 9.16	56.10 ± 8.49	0.0748	46.20 ± 7.47	50.70 ± 6.52	0.0625

Los valores se expresan con media ± desviación estándar. ** Nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

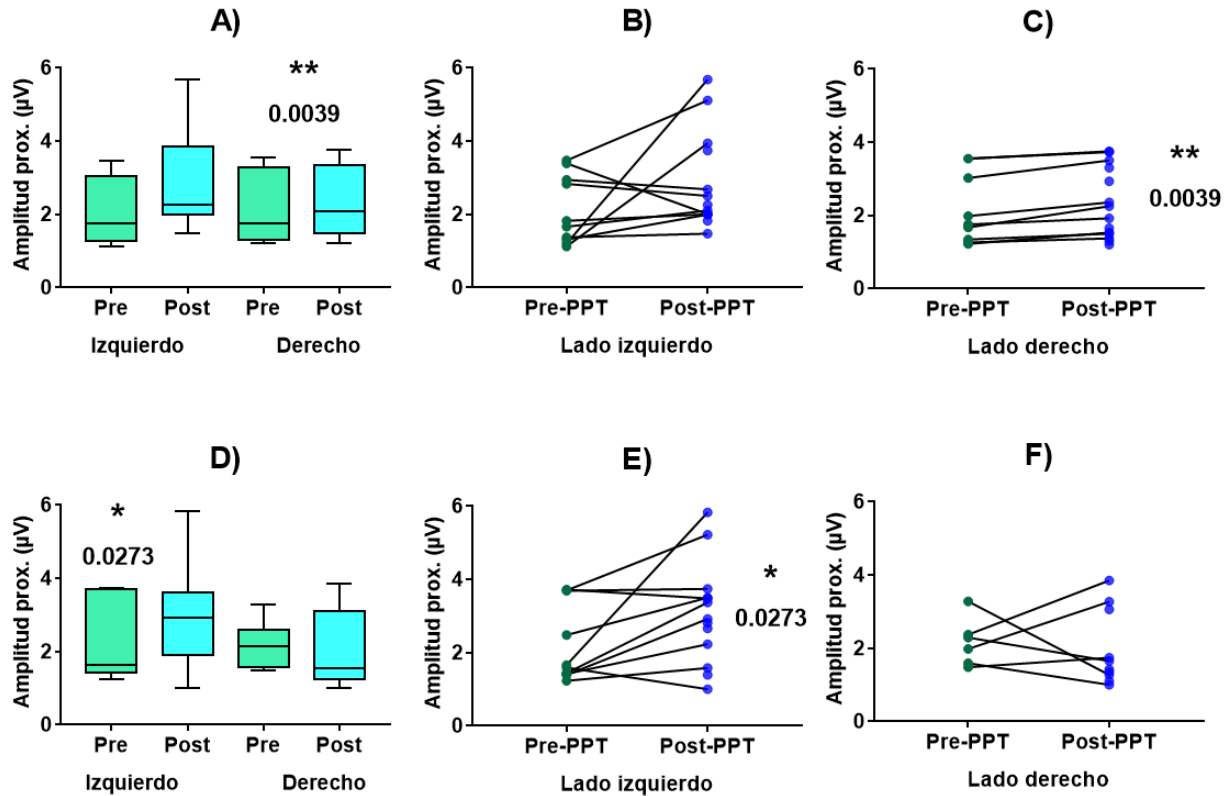


Figura 2. Amplitud proximal del nervio peroneo motor en miembros inferiores izquierdo y derecho, pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). A, B y C) Grupo I n=15 (1 a 10 DM2) y D, E y F) Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). Se empleó una prueba no paramétrica de Wilcoxon (Grupo I y Grupo II). El ** representa nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05)

Se obtuvo una amplitud reducida de los PAMC en ambos grupos, tanto con estimulación distal como proximal. Una amplitud inferior a la normal se puede encontrar en pacientes con PND, en lesiones traumáticas del nervio ciático y en radiculopatías lumbosacras con daño axonal extenso. Después del tratamiento con PPT, en los resultados de la amplitud proximal se tuvieron aumentos, en el grupo en general fue respecto al miembro inferior izquierdo (véase Tabla 5). En la **Figura 2**, para el **Grupo I** se tuvieron diferencias significativas en el miembro inferior derecho Pre-PPT de $2.15 \pm 0.96 \mu\text{V}$ y Post-PPT de $2.31 \pm 0.95 \mu\text{V}$ ($p < 0.0039^{**}$); en el Grupo II, se tuvieron diferencias significativas en el lado izquierdo Pre-PPT de $2.23 \pm 1.07 \mu\text{V}$ y Post-PPT de $3.06 \pm 1.40 \mu\text{V}$ ($p < 0.0273^*$).

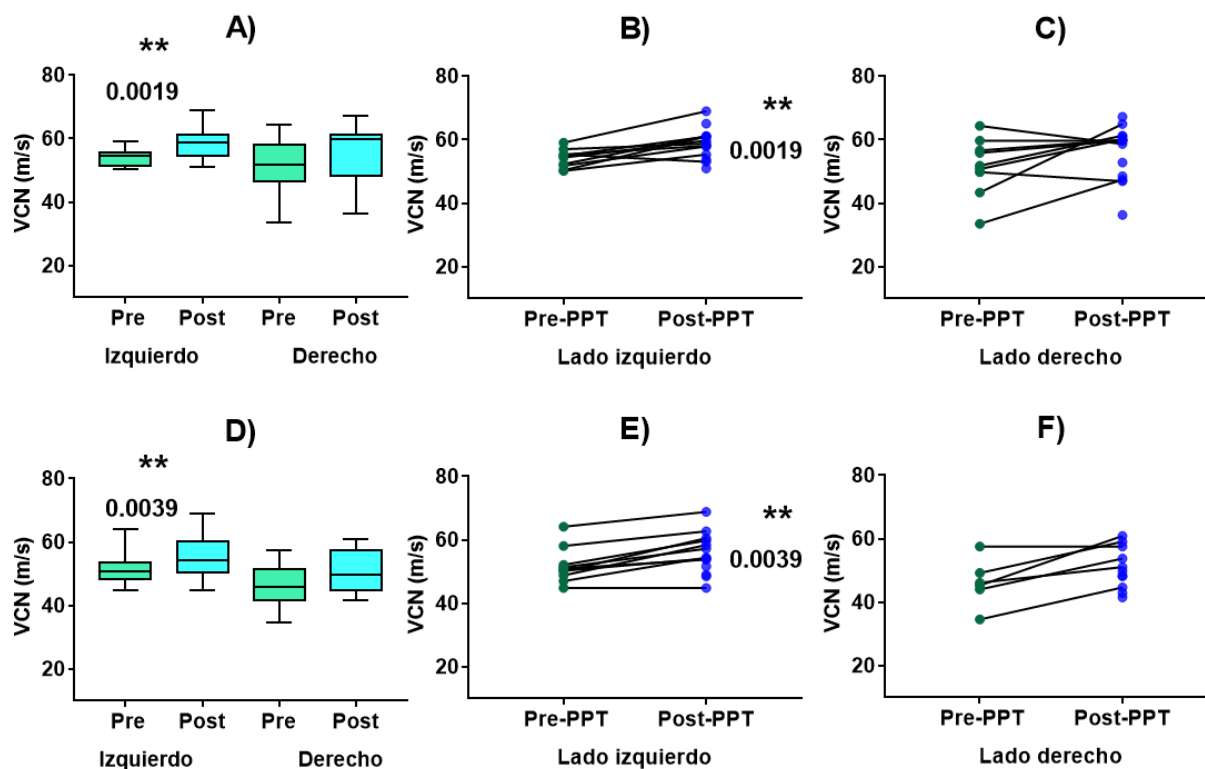


Figura 3. Velocidad de conducción nerviosa (VCN) del nervio peroneo motor en miembros inferiores izquierdo y derecho, pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). A, B y C) Grupo I n=15 (1 a 10 DM2) y D, E y F) Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). Se empleó una prueba T pareada paramétrica (Grupo I) y no paramétrica de Wilcoxon (Grupo II). El ** representa nivel de significación al 99% ($p < 0.01$) y * al 95 % ($p < 0.05$).

En los pacientes se encontraron daños axonales que afectan la respuesta en la VCN. Debido a la pérdida axonal se encuentra una disminución del PAMC, esto origina que se pierdan fibras que conducen con mayor velocidad. Como se observa en la **Figura 3**, se tuvieron diferencias significativas en la VCN para el **Grupo I** en el lado izquierdo Pre-PPT de 54.10 ± 2.87 m/s y Post-PPT de 58.80 ± 4.93 m/s ($p < 0.0019^{**}$); respecto al Grupo II se tuvieron diferencias significativas en el lado izquierdo Pre-PPT de 51.80 ± 5.56 m/s y Post-PPT de 55.70 ± 6.51 ($p < 0.0039^{**}$).

La velocidad de conducción nerviosa disminuye a medida que la gravedad de la PND aumenta con la duración de la DM2 y los resultados fueron similares tanto para los nervios motores como sensoriales.

6.3 Determinación de enzimas antioxidantes

La disminución inicial que tuvo la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en los pacientes con PND involucrados en el estudio, podría deberse a un incremento en la formación de O₂⁻. El aumento en la generación de ROS debido al estado de estrés provocado por la hiperglucemia en un principio estimula la actividad de la enzima SOD, sin embargo, una intensa producción de estos radicales por un tiempo prolongado agota la estimulación de la actividad de esta enzima, puesto que el producto de la reacción, el H₂O₂, puede inhibirla (Heredia *et al.*, 2014).

Tabla 6. Cambios de la actividad de la enzima superóxido dismutasa durante el estudio

Enzima superóxido dismutasa (SOD)	Grupo en general (1 a 20 años DM2) n=30			Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15			Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15		
	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor
Actividad de SOD (% de rango de inhibición)	53.84 ± 8.36	59.98 ± 10.85	0.0005 ***	53.49 ± 8.59	57.96 ± 11.69	0.0318 *	54.20 ± 8.40	62.00 ± 9.90	0.0081 **
Concentración de la enzima SOD (U/ml)	0.389 ± 0.08	0.347 ± 0.09	0.0120 *	0.385 ± 0.06	0.374 ± 0.10	0.6103	0.394 ± 0.10	0.321 ± 0.06	0.0103 *

Los valores se expresan con media ± desviación estándar. ** Nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

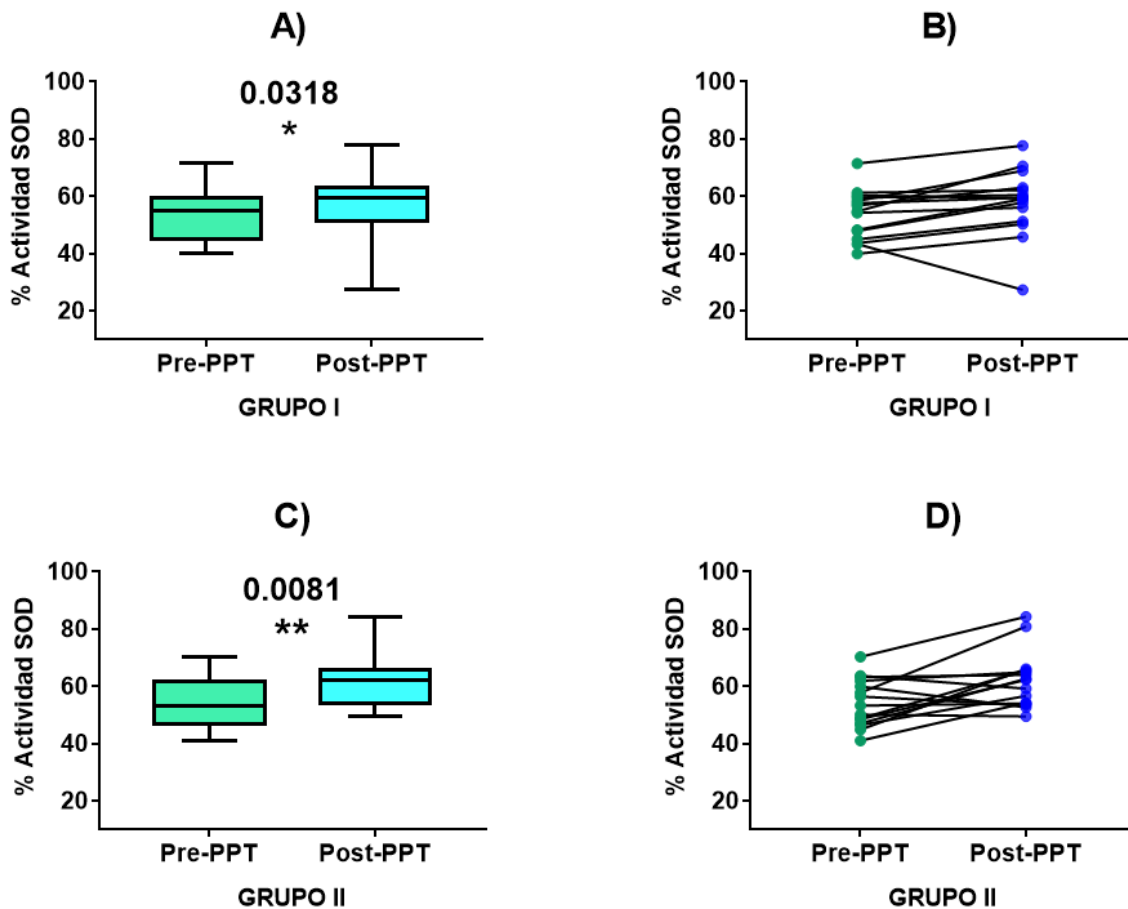


Figura 4. Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). A y B) Grupo I n=15 (1 a 10 años DM2); C y D) Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). Se empleó una prueba T pareada paramétrica (Grupo I y Grupo II). El ** representa nivel de significación al 99% ($p < 0.01$) y * al 95 % ($p < 0.05$).

Los resultados del porcentaje de la enzima de SOD tienden a aumentar después del tratamiento con PPT. Se tuvieron diferencias significativas como se observa en la **Figura 4**, para el **Grupo I**, valor inicial de 53.84 ± 8.36 % y final de 59.98 ± 10.85 % (0.0318^*), de los cuales se tuvieron 14 pacientes que incrementaron más su valor, sin embargo, 1 paciente disminuyó su porcentaje. Respecto al **Grupo II**, se tuvo un valor inicial de 54.20 ± 8.40 % y al final de 62.00 ± 9.90 % (0.0081^{**}), se encontró que 12 pacientes tuvieron incrementos superando el valor de la media, pero 3 pacientes disminuyeron su valor. Estos hallazgos nos indican que los pacientes con mayor tiempo de diagnóstico de la DM2 están en constante estrés oxidativo, pero si se adiciona PPT actúa como efecto proyector a nivel celular.

6.4 Análisis bioquímicos

Todos los pacientes incluidos fueron hiperglucémicos por el antecedente de DM2, durante el transcurso del estudio los resultados mostraron una reducción en la glucosa plasmática en ayunas después del tratamiento con PPT, pero sin diferencia significativa (véase Figura 5). Los valores de glucosa para ambos grupos mostraron una reducción de sus niveles después del tratamiento con PPT, para el **Grupo I**, Pre-PPT de 151.90 ± 39.36 mg/dL y post-PPT 150.10 ± 62.51 mg/dL; para el **Grupo II** fue de 156.70 ± 50.90 mg/dL y post-PPT 144.70 ± 46.86 mg/dL (véase Tabla 7).

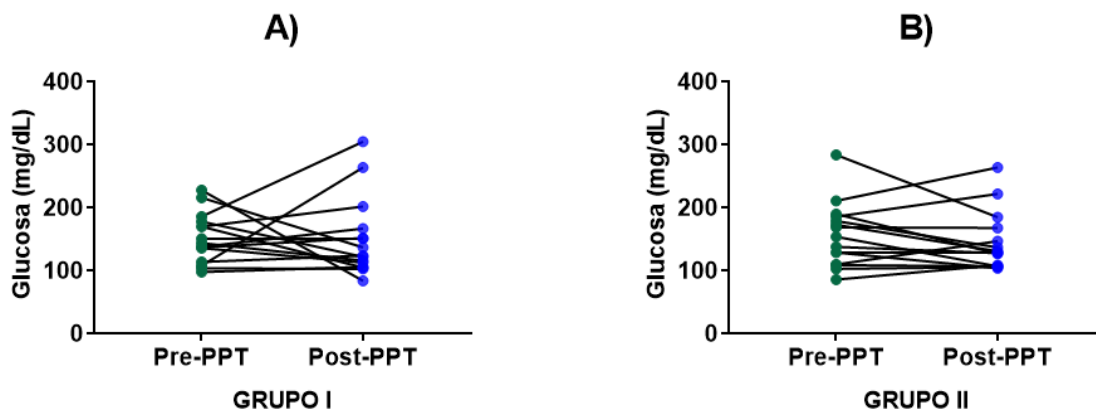


Figura 5. Cambios en la glucosa en ayunas, pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). A) Grupo I n=15 (1 a 10 años DM2) y B) Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). Se empleó una prueba no paramétrica de Wilcoxon (Grupo I y Grupo II). El ** representa nivel de significación al 99% ($p < 0.01$) y * al 95 % ($p < 0.05$). No se tuvieron diferencias significativas.

Tabla 7. Pruebas del laboratorio antes y después del tratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT).

Análisis químicos	Grupo en general n=30			Grupo I (1 a 10 años DM2) n=15			Grupo II (11 a 20 años DM2) n=15		
	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor	Pre-PPT	Post-PPT	p-valor
Glucosa en ayunas (mg/dL)	154.30 ± 44.70	151.90 ± 53.63	0.5238	151.90 ± 39.36	150.10 ± 62.51	0.0932	156.70 ± 50.90	144.70 ± 46.86	0.2885
Colesterol total (mg/dL)	200.10 ± 55.71	180.70 ± 57.88	0.0097 **	215.50 ± 37.82	185.10 ± 59.83	0.0166 *	184.60 ± 66.97	176.30 ± 57.61	0.6151
Colesterol LDL (mg/dL)	89.00 ± 29.08	99.70 ± 36.28	0.0534	95.03 ± 25.73	92.93 ± 22.39	0.7812	82.97 ± 31.81	106.50 ± 46.12	0.0107 *
Colesterol HDL (mg/dL)	53.55 ± 13.55	50.84 ± 8.36	0.1703	56.03 ± 10.03	49.85 ± 8.86	0.0052 **	51.06 ± 16.32	50.77 ± 8.58	0.9306
Triglicéridos (mg/dL)	239.50 ± 122.70	208.90 ± 101.90	0.9035	253.10 ± 109.10	224.50 ± 105.80	0.3320	225.90 ± 137.40	193.30 ± 99.06	0.1488
Creatinina (mg/dL)	1.14 ± 1.47	0.83 ± 0.12	0.0743	1.41 ± 2.07	0.82 ± 0.12	0.0309 *	0.87 ± 0.16	0.85 ± 0.11	0.5697
Urea (mg/dL)	29.18 ± 7.24	32.92 ± 9.06	0.0506	28.93 ± 6.06	34.65 ± 8.63	0.0457 *	29.44 ± 8.47	31.18 ± 9.45	0.3792
Ácido úrico (mg/dL)	5.81 ± 1.50	5.18 ± 1.33	0.0307 *	6.32 ± 1.54	5.26 ± 1.26	0.0232 *	5.30 ± 1.33	5.10 ± 1.44	0.5724

Los valores se expresan con media ± desviación estándar. ** Nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

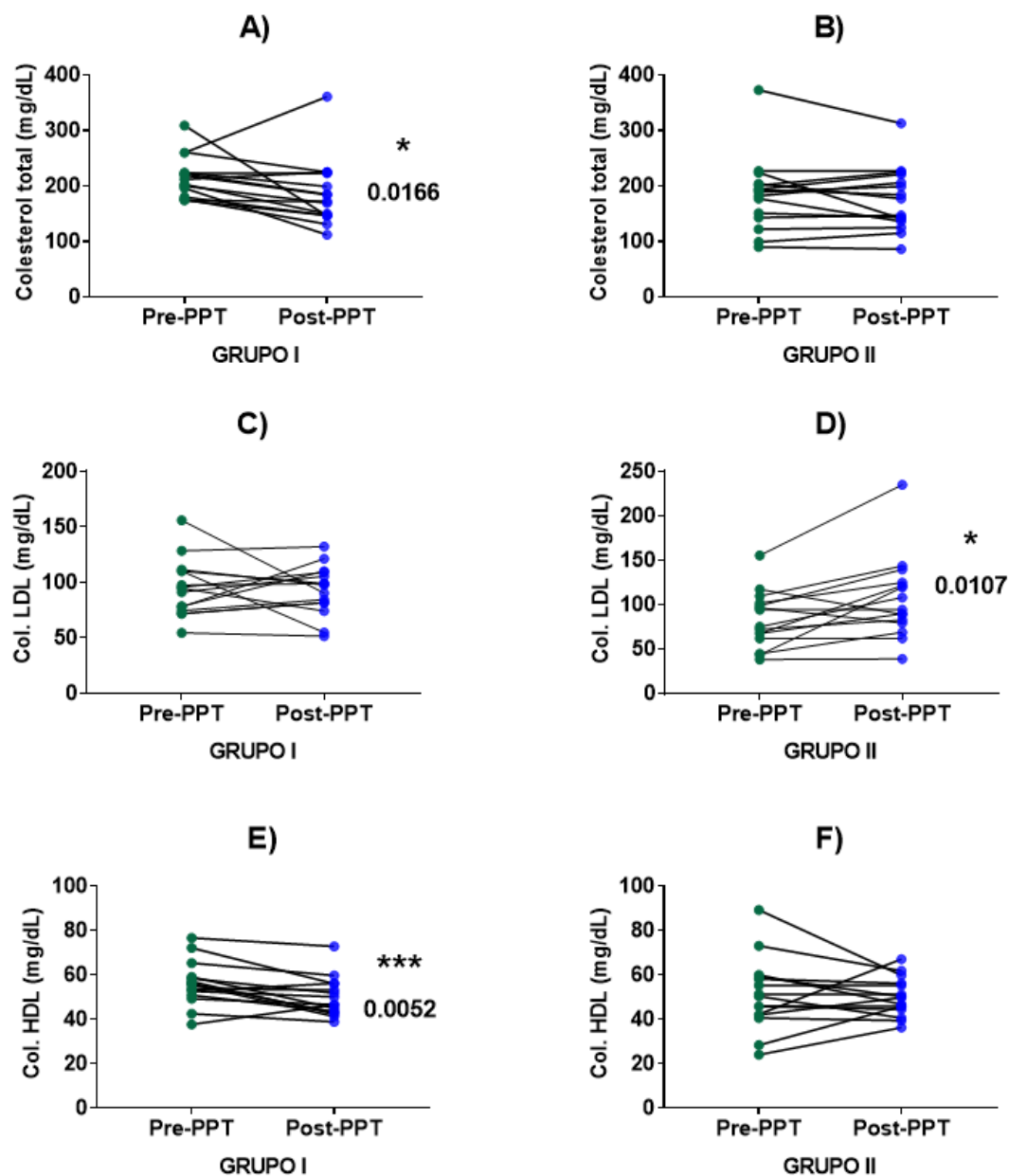


Figura 6. Cambios en las lipoproteínas, pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). Grupo I n=15 (1 a 10 años DM2) y Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). A y B) Colesterol total. C y D) Colesterol LDL (lipoproteína de baja densidad). E y F) Colesterol HDL (lipoproteína de alta densidad). Se emplearon pruebas no paramétricas de Wilcoxon (col. Total) y pruebas T pareadas paramétricas (HDL y LDL). El ** representa nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

Como puede observarse en la **Figura 6**, se redujo el colesterol después del tratamiento con PPT en el **Grupo I** a 185.10 ± 59.83 mg/dL ($p < 0.0166^*$), dejando de manifiesto que se encuentra dentro de los valores normalidad menor a 200 mg/dL. Respecto al colesterol LDL, se tuvo un incremento significativo después del tratamiento con PPT para el **Grupo II** de 106.50 ± 46.12 mg/dL ($p < 0.0107^*$), cabe destacar que, aunque aumentó aún se encuentra dentro de los valores de normalidad de referencia de 129 mg/dL. El colesterol HDL también tuvo cambios significativos ya que disminuyó post-PPT en especial en el **Grupo I** fue de 49.85 ± 8.86 mg/dL ($p < 0.0052^{***}$), sin embargo, este cambio se halla dentro de los valores normalidad de referencia de 35 a 65 mg/dL.

Además, en situación de hiperglucemia, al permanecer más tiempo en circulación las partículas LDL, tienen más posibilidades de sufrir procesos de glicosilación no enzimática y formación de AGE. Esta situación induce, como hemos visto antes: estrés oxidativo, disfunción endotelial e inflamación crónica. Por otro lado, se ha descrito que las partículas LDL pequeñas y densas aumentan con el mal control de la glucemia en la DM2. La peroxidación de las partículas de LDL constituye, quizás, la mayor contribución de los radicales libres a la génesis y agravamiento de la arteriosclerosis y en los DM2 descontrolados existe una mayor susceptibilidad de las partículas LDL a la oxidación (Cruz *et al.*, 2011).

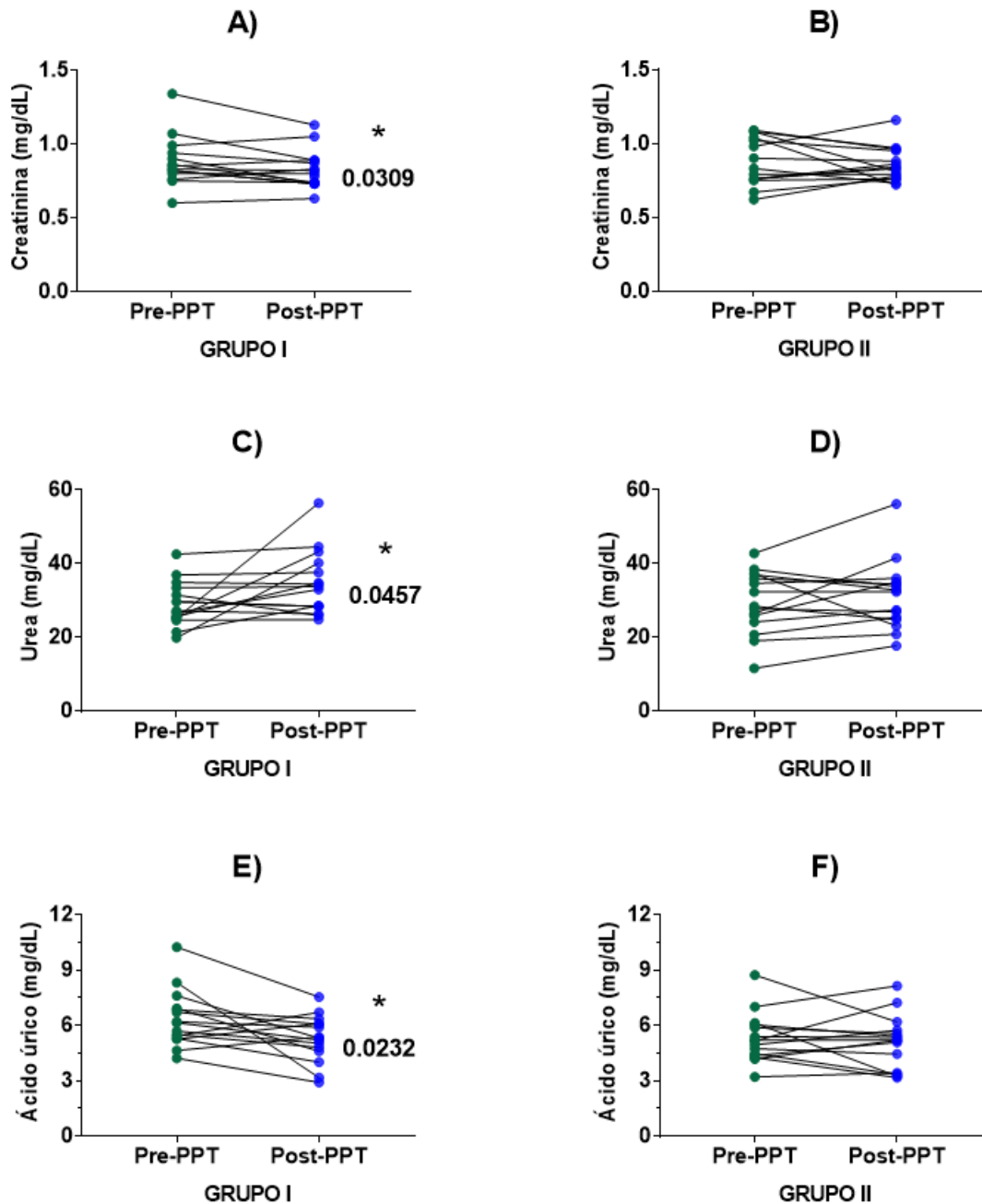


Figura 7. Cambios en parámetros bioquímicos, pre y postratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT). Grupo I n=15 (1 a 10 años DM2) y Grupo II n=15 (11 a 20 años DM2). A y B) Creatinina. C y D) Urea. E y F) Ácido úrico. Se emplearon pruebas no paramétricas de Wilcoxon (creatinina) y T pareada paramétrica (urea y ácido úrico). El ** representa nivel de significación al 99% (p<0.01) y * al 95 % (p<0.05).

Para los pacientes con DM2, es importante estar monitoreando los valores de creatinina para la función renal, ya que dichos valores vienen determinados por la edad y están relacionados con el control glucémico. En ambos grupos de estudios post-PPT se tuvieron valores ≤ 1 mg/d L, es decir, función renal normal (véase Tabla 7). Como se observa en la Figura 7, se tuvieron cambios significativos en los valores de creatinina para el **Grupo I** Pre-PPT de 1.41 ± 2.07 mg/dL vs Post-PPT 0.82 ± 0.12 mg/dL ($p < 0.0309^*$). El riñón es además un órgano diana para el daño inducido por los AGEs y el RAGE. La urea se incrementó en los grupos de estudio, se observó un cambio significativo en el **Grupo I** de 28.93 ± 6.06 mg/dL vs post-PPT 34.65 ± 8.63 mg/dL ($p < 0.0457^*$). El ácido úrico disminuyó en los grupos de estudio, se muestra un cambio significativo en el **Grupo I** de 6.32 ± 1.54 vs Post-PPT 5.26 ± 1.26 ($p < 0.0232^*$) (véase Figura 7).

7. DISCUSIÓN

La disminución en la velocidad de conducción nerviosa es una de las alteraciones más tempranas y que se acentúa más con el tiempo de evolución de la diabetes. Sin embargo, el grado de enlentecimiento en la conducción nerviosa no siempre guarda una correlación exacta con la gravedad de los síntomas neuropáticos. Las fibras nerviosas sensitivas suelen afectarse antes que las motoras. Las manifestaciones clínicas dependen del tipo de fibra que se lesiona. El daño de las fibras de pequeño calibre, que suelen preceder al de las fibras de mayor calibre, se manifiesta como un conjunto de alteraciones de la sensibilidad. Las extremidades inferiores se afectan primero y el daño se manifiesta con la pérdida de la sensibilidad táctil, de la nociceptiva y de discriminación térmica. El dolor neuropático, que también resulta una expresión temprana del daño de las fibras nerviosas de pequeño calibre, puede empezar a aparecer aun con cambios mínimos en la velocidad de conducción. Una vez que inicia la lesión a las fibras de pequeño calibre, aparecen las manifestaciones por daño a las fibras de mayor calibre, como pérdida del sentido de la posición y de la vibración, la pérdida moderada de tacto leve la ataxia sensorial con pérdida de reflejos aquilianos (Fitzgerald *et al.*, 2012).

Hay varios mecanismos por los que la hiperglucemia da lugar a daño en el nervio periférico. La hiperglucemia reduce el mioinositol en los nervios, pero aumenta la afluencia de la glucosa a través de la vía de los polioles y reduce la actividad de la ATPasa de Na^+/K^+ . El aumento de las concentraciones de Na^+ , K^+ , fructosa y sorbitol en el nervio absorben el agua a través de osmosis. El sorbitol no difunde fácilmente a través de las membranas, por lo que su aumento dentro de la célula contribuye a incrementar la presión osmótica intracelular y se dañarían

entonces los tejidos debido al edema celular. Este líquido acumulado provoca la compresión del nervio, lo que conduce a un menor transporte axonal (Chung y Cheng, 2003; Kumar *et al.*, 2015). Nuestros resultados sugieren es que quizás, el PPT podría disminuir el sorbitol endoneural, aumentar la VCN motora y sensitiva y/o aliviar las parestesias, restaurando la funcionalidad de las vainas de mielina afectadas en esta complicación microvascular, aunque, en general, la mejoría clínica que experimentaron los pacientes es aún moderada.

La evidencia sugiere que los pacientes con DM2 están bajo mayor estrés oxidativo (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2000; West, 2000). El estrés oxidativo y la hiperglucemia pueden estar relacionados causalmente, y el estrés oxidativo contribuye siendo el resultado de la hiperglucemia, la resistencia a la insulina y el deterioro de la función de las células beta pancreáticas (Ceriello, 2000; West, 2000). Los estudios que demuestran que el daño radical de oxígeno aumenta y las defensas antioxidantes se reducen en la DM2, sugieren que el incremento en el estrés oxidativo puede deberse tanto a la producción de ROS como a la disminución de las concentraciones de los antioxidantes (West, 2000). Esto proporciona una base teórica para la investigación de los efectos del PPT sobre el control glucémico en la diabetes.

Se considera que los ROS generados *in vivo* juegan un papel importante en el daño del nervio (Brownlee, 2005; Cerillo, 2003; Kasznicki *et al.*, 2012). La oxidación de los niveles elevados de glucosa dentro de la célula estimula la producción de ROS y aumenta el estrés oxidativo (Brownlee, 2005). Un aumento de la generación de ROS tal como superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo es la causa de la oxidación de una modificación de la estructura de las proteínas celulares, ácidos nucleicos y lípidos de membrana. El daño de la estructura celular y el deterioro de su función, conduce a la necrosis celular y la activación de genes implicados en el daño neuronal (Obrosova, 2002). En pacientes con diabetes, el aumento del estrés oxidativo puede estar asociado no sólo con una sobreproducción de ROS, sino también con una disminución significativa en la eficacia de las defensas antioxidantes o ambos. Los mecanismos celulares antioxidantes insuficientes también pueden estar implicados en el daño del nervio. Por lo tanto, la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX) pueden ser cruciales para este proceso.

En la literatura, la mayor parte de las acciones de la tiamina descritas en el tejido nervioso se limita a aspectos metabólicos, que muestran su función coenzimática a través de la forma activa de esta vitamina que es el PPT. Además, éste constituye el 80% del total de la tiamina presente en los tejidos nerviosos (Bourges *et al.*, 2005; Kathleen *et al.*, 2013). Por lo tanto, en el cerebro,

el PPT es necesario en las neuronas y las células gliales, por lo que el funcionamiento inadecuado de las enzimas que utilizan PPT (es decir, piruvato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa) puede conducir a fracaso en las reacciones bioquímicas, tales como la síntesis de neurotransmisores, como acetilcolina, glutamato, ácido gamma-aminobutírico y aspartato. Además, el funcionamiento inadecuado de la piruvato deshidrogenasa puede conducir a una disminución en la síntesis de mielina y glutatión, inhibiendo así la capacidad de estas neuronas para conducir señales y la defensa del cuerpo contra el estrés oxidativo, respectivamente, como se ha demostrado tanto en estudios en humanos como en roedores (Fernandes *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2003; Singleton *et al.*, 2001).

Otros estudios que se han realizado acerca de los efectos de las vitaminas del complejo B sobre la excitabilidad neuronal y las corrientes de sodio (Na^+) (Song *et al.*, 2009); se ha observado que disminuye, de manera significativa, la hiperexcitabilidad neuronal, suprime la hiperalgesia térmica y en forma parcial, revierte las alteraciones en las corrientes de Na^+ inducidas por la lesión. Dado lo anterior, diversos autores apoyan el uso de vitaminas B para el tratamiento de condiciones neuropáticas dolorosas, después de una lesión, inflamación, degeneración u otras alteraciones del sistema nervioso humano. Siendo el principal sustento que depende de las vitaminas B en estrés oxidativo, procesamiento de proteínas, función peroxisomal y expresión de genes (Jayabalan *et al.*, 2016). Todos estos procesos son importantes después de una lesión nerviosa, pues pueden alterar diversos tipos de neuronas y disparar una variedad de cambios en la expresión de genes, que afectan a diversas proteínas, e incluyen: canales iónicos, receptores y otras proteínas de membrana. La vitamina B1 inhibe la vía diacilglicerol -proteína quinasa C, lo cual provee otra explicación de sus efectos antialodínico, antihiperalgésico y antinociceptivo (Farvid *et al.*, 2011; Sánchez *et al.*, 2006).

Sin embargo, la práctica clínica sugiere que el tratamiento con vitaminas del complejo B, tales como tiamina (B1), ácido fólico (B9), cianocobalamina (B12) y nicotinamida (B3) es esencial, incluso si sus niveles están dentro de los límites normales para evitar la progresión de la enfermedad. Aunque hay controversias en cuanto a la dosis (75-1000 mg/kg) y duración (1-12 semanas) de terapia de reemplazo de tiamina, estudios en humanos demostraron que su iniciación temprana, dentro de al menos dos semanas después de la aparición de los síntomas, mejora el pronóstico y la recuperación del paciente. La terapia de reemplazo de tiamina ha sido bien establecida para los casos de encefalopatía de Wernicke, que se genera por la deficiencia de tiamina asociada con el consumo de alcohol. Teniendo en cuenta las pérdidas en el SNC generadas por la deficiencia de tiamina, tal como se ha revisado anteriormente, la intervención

clínica consiste en la administración parenteral diaria de esta vitamina hasta que los síntomas se invierten (Fernandes *et al.*, 2017).

El PPT ha mostrado tener una capacidad antioxidante ya que normaliza los niveles de peroxidación de lípidos y es un potente inhibidor de la glicosilación no enzimática de las proteínas y mejora los sistemas antioxidantes tales como catalasa y el sistema de glutatión (Hernández *et al.*, 2014). Estudios en animales diabéticos demuestran claramente el papel patogénico de los AGEs en la nefropatía diabética (Oldfield *et al.*, 2001), de esta manera al disminuir los valores de creatinina, se previenen complicaciones de nefropatía. Estudios previos han demostrado la efectividad de la tiamina para diversas patologías, se tiene evidencia de la benfotiamina un fármaco liposoluble que presenta alta biodisponibilidad, se ha administrado durante tres semanas a pacientes con PND donde se observó una mejora la puntuación de la neuropatía y disminución de la percepción del dolor (Haupt *et al.*, 2005).

Estudios epidemiológicos clínicos han demostrado una fuerte asociación entre dislipidemia y las complicaciones microvasculares. La dislipidemia es, por tanto, un importante parámetro modificable en la prevención y el tratamiento de la PND en la DM2. Los mecanismos por los cuales los lípidos plasmáticos producen daño neuronal no son totalmente conocidos, pero hay varios factores que juegan un papel en la PND mediada por lípidos que han sido identificados. En la DM2, se observa un tipo particular de dislipidemia, de dos a tres veces más frecuente que en la población general, que puede preceder años a la aparición de hiperglucemia. Se caracteriza por aumento de triglicéridos y partículas LDL pequeñas y densas; disminución de HDL, elevación de apolipoproteína B y lipemia postprandial prolongada. Las alteraciones en las partículas LDL y HDL junto al cociente CT/HDL son los factores con más peso predictivo de episodios cardiovasculares. La resistencia a la insulina se acompaña de disminución de la síntesis de ApoA-1 y aceleración del catabolismo de las partículas HDL, por mayor actividad de la lipasa hepática y de la proteína transportadora de ésteres de colesterol, lo que se traduce en descenso de la concentración plasmática de HDL y de su capacidad antiaterogénica (Taskinen, 2003).

Los ensayos clínicos con antioxidantes en pacientes con PND son limitados y no hay suficiente evidencia para recomendar el uso rutinario de estos agentes. Por ende, se sugiere que el PPT podría reducir el estrés oxidativo probablemente por su efecto en la disminución de lípidos que conduce a la mejora de la lipoproteína de baja densidad oxidada y sus efectos pleiotrópicos independientes de los niveles de lípidos (Abe *et al.*, 2011; Hernández-Ojeda *et al.*, 2014). Los lípidos como el colesterol total disminuyeron significativamente con PPT, lo que indica reducción

de la peroxidación lipídica derivado de ROS. La mejora en el estrés oxidativo podría ayudar a los mecanismos de regeneración axonal a vencer la apoptosis inducida por hiperglucemia y restablecer la función nerviosa en PND.

8. CONCLUSIÓN

- a) El tratamiento con PPT ha mostrado un aumento significativo en la velocidad de conducción de los nervios estudiados después de 3 meses de seguimiento. Se observó una mejoría en la velocidad de conducción del nervio peroneo y sural, lo que indica que probablemente el período de tiempo y/o la dosis administrada mostraron tal efecto en los sujetos de estudio. Observamos que en más del 50% de los pacientes tratados con PPT, mejoraron considerablemente.
- b) El Grupo I presentó una mejoría significativa en la VCN en el nervio sural sensitivo del lado derecho y para el Grupo II, mejoró en el lado izquierdo. Respecto al nervio peroneo motor, para el Grupo I y Grupo II, se mejoró la VCN en el miembro inferior izquierdo.
- c) Los resultados muestran que el tratamiento con PPT mejora notablemente la VCN en miembros inferiores, con mejor respuesta en pacientes con menor tiempo de evolución o diagnóstico de la DM2.
- d) Los pacientes presentaron una alteración en el sistema de defensa antioxidante endógeno mediado por la SOD y sus cofactores, por lo cual, se sugiere que el PPT puede modificar sus concentraciones, aumentando sus niveles y de esta manera tener un efecto protector en la PND.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Abe M, Maruyama N, Okada K, Matsumoto S, Matsumoto K, Soma M. (2011). Effects of lipid-lowering therapy with rosuvastatin on kidney function and oxidative stress in patients with diabetic nephropathy. *J Atheroscler Thromb*; 18:1018–1028.
- 2) American Diabetes Association. (2017). Microvascular complications and foot care. Sec. 10. In *Standards of Medical Care in Diabetes 2017*. *Diabetes Care*; 40 (Suppl. 1): S88–S98.
- 3) Bansal, V., Kalita, J., & Misra, U. K. (2006). Diabetic neuropathy. *Postgraduate Medical Journal*; 82 (964), 95–100.
- 4) Bonnefont-Rousselot D., Bastard JP., Jaudon MC., Delattre J. (2000). Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metabol*; 26: 163-176.
- 5) Booya, F., Bandarian, F., Larijani, B., Pajouhi, M., Nooraei, M., & Lotfi, J. (2005). Potential risk factors for diabetic neuropathy: a case control study. *BMC Neurology*; 5, 24.
- 6) Boulton A et al. (2004) Diabetic somatic neuropathies. *Diabetes Care*; 27, 1458–1486.
- 7) Bourges H., Casanueva E., Rosado J.L. (2005) Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana. Bases fisiológicas tomo 1. Editorial medica panamericana. Argentina.
- 8) Boyraz O., y Saracoglu M. (2010). The effect of obesity on the assessment of diabetic peripheral neuropathy: A comparison of Michigan patient version test and Michigan physical assessment. *Diabetes Research and Clinical Practice*; 90 (3), 256–260.
- 9) Brownlee M (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*; 54:1615–1625.
- 10) Cardinali Daniel P. (2007). *Neurociencia aplicada y sus fundamentos*. Médica panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- 11) Ceriello A. (2000). Oxidative stress and glycemic regulation. *Metab Clin Exp*; 49 ((supple 1)) 27-29.
- 12) Ceriello A. (2003) New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to “casual” antioxidant therapy. *Diabetes Care*; 26:1589–1596.
- 13) Chung SS, Cheng SK. Genetic analysis of aldose reductase in diabetic complications. *Curr Med Chem* 2003; 10 (15): 1375-87.
- 14) Cravo ML., Glória LM., Selhub J. (1996). Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr*; 63: 220–224.

- 15) Cruz HJ. y *et al.* (2011). Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev Mex Patol Clin*; 58 (1): 4-15.
- 16) Cui Y., Zheng L., Wang X., Zhang W., Yuan D., Wei Y. (2015). Marchiafava-Bignami disease with rare etiology: a case report. *Exp Ther Med*; 9: 1515–1517.
- 17) Dyck PJ., Karnes JL., Daube J., *et al.* (1985). Clinical and neuropathological criteria for the diagnosis and staging of diabetic polyneuropathy. *Brain*; 108:861– 880.
- 18) Edwards, J. L., Vincent, A., Cheng, T., & Feldman, E. L. (2008). Diabetic Neuropathy: Mechanisms to Management. *Pharmacology & Therapeutics*; 120 (1), 1–34.
- 19) El-Salem K., Ammari F., Khader Y., Dhaimat O. (2009). Elevated glycosylated hemoglobin is associated with subclinical neuropathy in neurologically asymptomatic diabetic patients: a prospective study. *Journal of Clinical Neurophysiology*; 26 (1):50-53.
- 20) Fagerberg SE, Peterson I, Steg G, Wilhelmsen L. Motor disturbances in diabetes mellitus. (1963). A clinical study using electromyography and nerve conduction velocity determination. *Acta Medica Scandinavica*; 174: 711–6.
- 21) Farvid, M S., Homayouni F., Amiri, Z., Adelmanesh F. (2011). Improving neuropathy scores in type 2 diabetic patients using micronutrients supplementation. *Diabetes Research and Clinical Practice*; 93, 1: 86-94.
- 22) Feldman EL., Stevens MJ., Thomas PK., Brown MB., Canal N., Greene DA. (1994). A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care*; 17:1281–1289.
- 23) Fernandes LMP., Bezerra FR., Monteiro MC., Silva ML., Oliveira FR., Lima RR., Fontes-Júnior EA. y Maia CSF. (2017). Thiamine deficiency, oxidative metabolic pathways and ethanol-induced neurotoxicity: how poor nutrition contributes to the alcoholic syndrome, as Marchiafava–Bignami disease. *European Journal of Clinical Nutrition*; 71, 580-586.
- 24) Fitzgerald, R. (2002). *Ortopedia*. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- 25) Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*; 10(2): 486–489.
- 26) Gil Ángel. (2010). *Tratado de nutrición tomo I Bases fisiológicas y bioquímicas de la Nutrición*. 2ª edición. Médica panamericana. España.
- 27) Gregersen G. Diabetic neuropathy: influence of age, sex, metabolic control and duration of diabetes on motor conduction velocity. (1967). *Neurology*; 17:972–80.

- 28) Guía de práctica clínica para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. México. Instituto Mexicano del Seguro Social. 08/07/2014. Disponible <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/catalogoMaestroGPC.html>.
- 29) Gutiérrez-Cirlos C., Cárdenas-Cortés MC., Gullas-Herrero A., y Agüero y Reyes L. (2013). Diagnóstico y tratamiento médico del dolor por neuropatía periférica diabética en adultos en el primer nivel de atención. Evidencias y recomendaciones. Secretaría de salud; 12 diciembre. México.
- 30) Haupt E., Ledermann H., Köpcke W. (2005). Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy--a three-week randomized, controlled pilot study (BEDIP study) *Int J Clin Pharmacol Ther*; 43:71–77.
- 31) Heredia R. Danay., Fernández C. Douglas. Alfonso R., Jesús., Rodríguez V., Elba., Santana G., Lucy y Rodríguez P., Margarita. (2014). Sistema antioxidante enzimático e indicadores de daño oxidativo en pacientes diabéticos tipo 2. *Rev Chil Endocrinol diabetes*; 7 (3): 94-98.
- 32) Herman WH, Pop-Busui R, Braffett BH, et al. (2012). Use of the Michigan Neuropathy Screening Instrument as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in type 1 diabetes: results from the Diabetes Control and Complications Trial/ Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. *Diabet Med*; 29 (7): 937–944.
- 33) Hernández-Montiel HL, Vásquez López CM, González-Loyola JG, Vega-Anaya GC, Villagrán-Herrera ME, Gallegos-Corona MA, Saldaña C, Ramos Gómez M, García Horshman P, García Solís P, Solís-S JC, Robles-Osorio ML, Ávila Morales J, Varela-Echavarría A, Paredes RG. (2014). Chronic administration of thiamine pyrophosphate decreases age-related histological atrophic testicular changes and improves sexual behavior in male Wistar rats. *Histol Histopathol*; 29(6):785-95.
- 34) Hernández-Ojeda, J., Román-Pintos, L. M., Rodríguez-Carrízalez, A. D., Troyo-Sanromán, R., Cardona-Muñoz, E. G., Alatorre-Carranza, M. del P., & Miranda-Díaz, A. G. (2014). Effect of rosuvastatin on diabetic polyneuropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled Phase IIa study. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*; 7, 401–407.
- 35) Hsu W, -C, Chiu Y, -H, Chen W, -H, Chiu H, -C, Liou H, -H, Chen T, H, -H, Simplified Electrodiagnostic Criteria of Diabetic Polyneuropathy in Field Study (KCIS No. 14). (2007). *Neuroepidemiology*; 28:50-55.

- 36) Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT, 2012). Resultados por entidad federativa, Querétaro. Cuernavaca, México.
- 37) Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino, 2016 (ENSANUT MC, 2016). Informe final de resultados. Cuernavaca, México.
- 38) Jayabalan, B., & Low, L. L. (2016). Vitamin B supplementation for diabetic peripheral neuropathy. *Singapore Medical Journal*; 57(2), 55–59.
- 39) Jiménez-Domínguez, Rubén., Flores Villegas, Baldomero; Lazcano Mendoza María de Lourdes., Flores Lazcano, Iván. (2016). Revisión. Abordaje clínico y electrofisiológico del paciente con polineuropatía. *Revista Mexicana de Neurociencia*. Mayo-Junio; 17(3): 100-112.
- 40) Jolivalt CG., Mizisin LM., Nelson A, et al. (2009). B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats. *Eur J Pharmacol*; 612 (1):41-47.
- 41) Karsidag S, Morali S, Sargin M, et al. (2005). The electrophysiological findings of subclinical neuropathy in patients with recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*; 67:211–219.
- 42) Kasznicki, J., Kosmalski, M., Sliwinska, A., Mrowicka, M., Stanczyk, M., Majsterek, I., & Drzewoski, J. (2012). Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Molecular Biology Reports*; 39 (9), 8669–8678.
- 43) Kathleen Mahan L., Escott-Stump S., Janice y Raymond J.L. (2013). *Krause dietoterapia*. 13a edición. Elsevier. España.
- 44) Kimura Jun. (2013). *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle: principles and practice*. 4th ed. Oxford University Press. New York.
- 45) Kumar A., Saluja N., Purohit R., Choudhary S. (2015). Comparison of Motor and Sensory Nerve Conduction in Upper Limb of Diabetics and Non-Diabetics. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*; 02 (4): 211-216.
- 46) Lee, S., Kim, H., Choi, S., Park, Y., Kim, Y., & Cho, B. (2003). Clinical usefulness of the two-site Semmes-Weinstein monofilament test for detecting diabetic peripheral neuropathy. *Journal of Korean Medical Science*; 18 (1), 103–107.
- 47) Martin PR., Singleton CK., Hiller-Sturmhöfel S. (2003). The role of thiamine deficiency in alcoholic brain disease. *Alcohol Res Health*; 27: 134–142.
- 48) Mendoza-Romo M., Ramírez-Arriola M. (2005). Abordaje multidisciplinario del pie diabético. *Rev Endocrinol Nut*; 13 (4):165-79.
- 49) Muntean, C., Cătălin, B., Tudorică, V., et al. (2016). Efficiency of Michigan Neuropathy

- Screening Instrument and Nerve Conduction Studies for Diagnosis of Diabetic Distal Symmetric Polyneuropathy. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*; 23(1) 55-65.
- 50) Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. Disponible <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4215/salud/salud.htm>.
- 51) Obrosova IG. (2002). How does glucose generate oxidative stress in peripheral nerve? *Int Rev Neurobiol*; 50:3–35.
- 52) Oldfield, M. D., Bach, L. A., Forbes, J. M., Nikolic-Paterson, D., McRobert, A., Thallas, V., Cooper, M. E. (2001). Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Journal of Clinical Investigation*; 108 (12), 1853–1863.
- 53) Oyenihi, A. B., Ayeleso, A. O., Mukwevho, E., & Masola, B. (2015). Antioxidant Strategies in the Management of Diabetic Neuropathy. [Review]. *Biomed Research International*; 15.
- 54) Pascual S.I. (2007). Neurología: trastornos neuromusculares aspectos electrofisiológicos. *Anales Pediatría Continuada*; 5 (5):266-78.
- 55) Preston C. David y Shapiro E. Barbara (2013). *Electromyography and Neuromuscular Disorders Clinical-Electrophysiologic Correlations*. El Sevier 3a. edition. China.
- 56) Reyes-García G., Caram-Salas N. L., Medina-Santillán R., Granados-Soto V. (2004). Oral administration of B vitamins increases the antiallodynic effect of gabapentin in the rat. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*; 47:76–79.
- 57) Reyes-García G., Caram-Salas NL., Medina-Santillán R., et al. (2004). Oral administration of B vitamins increases the antiallodynic effect of gabapentin in the rat. *Proc West Pharmacol Soc*; 47:76-79.
- 58) Rosas Guzmán J., Odriozola A, Davidson JA. (2010). *Guía Práctica en el Manejo De La Polineuropatía Diabética*, Neuralad 2010.
- 59) Salinas Durán F., y Lugo Agudelo L.H. (2008). *Rehabilitación en salud*, 2ª. Edición. Universidad de Antioquia. Colombia.
- 60) Sánchez-Ramírez GM., Caram-Salas NL., Rocha-González HI, et al. (2006). Benfotiamine relieves inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol*; 530:48-53.

- 61) Santos Anzorandia Carlos. (2003). El Abecé de la electroneuromiografía clínica. Editorial Ciencias Médicas. Cuba.
- 62) Sima AAF., Bril V., Nathaniel V., McEwen TA., Brown MB., Lattimer SA., et al. (1988) Regeneration and repair of myelinated fibers in suralnerve biopsy specimens from patients with diabetic neuropathy treated with sorbinil. *New England Journal of Medicine*; 319: 548–555.
- 63) Simon Roger P., Greenberg David A., Aminoff Michael J. (2008). *Neurología clínica*. Séptima edición. Mc Graw Hill. México.
- 64) Singleton CK., Martin PR. (2001). Molecular mechanisms of thiamine utilization. *Curr Mol Med*; 1: 197–207.
- 65) Sinnreich M et al. (2005). Diabetic neuropathies. Classification, clinical features, and pathophysiological basis. *Neurologist*; 11: 63–79.
- 66) Song XS., Huang ZJ., Song XJ. (2009). Thiamine suppresses thermal hyperalgesia, inhibits hyperexcitability, and lessens alterations of sodium currents in injured, dorsal root ganglion neurons in rats. *Anesthesiology*;110(2):387-400.
- 67) Sultana S, Begum N, Ali L, Hossain M, Bhowmik NB, Parveen S, et al. Electrophysiological changes of sensory nerves in patients with type-2 diabetes mellitus of different duration. (2010). *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal*; 3(1):9–12.
- 68) Sultana S, Begum N, Ali L, Hossain M, Bhowmik NB, Parveen S, et al. Electrophysiological changes of sensory nerves in patients with type-2 diabetes mellitus of different duration. (201). *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal*; 3(1):9–12.
- 69) Tallaksen CM., Bell H., y Bohmer T. (1993). Thiamin and thiamin phosphate ester deficiency assessed by high performance liquid chromatography in four clinical cases of Wernicke encephalopathy. *Alcohol Clin Exp Res*; 17: 712–716.
- 70) Taskinen MR. (2003). Diabetic dyslipemia, from basic research to clinical practice. *Diabetologia*; 46: 733-49.
- 71) Tesfaye S., Stevens LK., Stephenson JM., Fuller JH., Plater M., Ionescu-Tirgoviste C., Nuber A., Pozza G., Ward JD. (1996). Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycemic control and potential risk factors. The Euro Diab IDDM complications study. *Diabetologia*; 39:1377–1384.

- 72) Torres y Gutiérrez Rubio A. (2012). Efecto analgésico de las vitaminas del complejo B, a 50 años de la primera combinación fija de tiamina, piridoxina y cianocobalamina. *Med Int Mex*; 28 (5):473-482.
- 73) Valls Solé Josep. (2007). Electromiografía y estudios de conducción nerviosa. *Jano* 23-29 No. 1673.
- 74) Vinik A., Ullal J., Parson HK., Casellini CM. (2006). Diabetic neuropathies: clinical manifestations and current treatment options. *Nat Clin Pract End Met*; 2 (5), 269-281.
- 75) Vinik, A. I. (2004). Advances in Diabetes for the Millennium: New Treatments for Diabetic Neuropathies. *Medscape General Medicine*; 6 (3 Suppl), 13.
- 76) Wang ZB., Gan Q., Rupert RL., et al. (2005). Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury. *Pain*; 114:266-277.
- 77) Waxman Stephen G. (2011). *Neuroanatomía clínica*. 26ª edición. McGraw Hill Interamericana. México.
- 78) West IC. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Med*; 17:171-180.
- 79) Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*; 27(5): 1047–1053.
- 80) Zarco A.L. (2003). Bases neurofisiológicas de la conducción nerviosa y la contracción muscular y su impacto en la interpretación de la neuronografía y la electromiografía. Asociación Colombiana de Neurología.

10. ANEXOS

Anexo 1. Abreviaturas

AGE. Productos finales de glicación avanzada

ATP. Adenosín trifosfato

CAT. Catalasa

DAG. Diacilglicerol

DM. Diabetes mellitus

DM2. Diabetes mellitus tipo 2

ECN. Estudios de conducción nerviosa

EDTA. Ácido etilendiaminotetraacético

ENSANUT MD 2016. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016

ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

g. Gramos

GPx. Glutación peroxidasa

HDL. Lipoproteína de alta densidad

LDL. Lipoproteína de baja densidad

m/s. Metros sobre segundos

mg/mL. Miligramos sobre mililitros

mV. Milivoltio

NADPH. Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

PAMC. Potenciales de acción muscular compuesto

PANS. Potenciales de acción nerviosos sensitivos

PKC. Proteína quinasa C

PND. Polineuropatía diabética

PPT. Pirofosfato de tiamina

RAGE. Receptor para productos finales de glicación avanzada

ROS. Especies reactivas del oxígeno

s. Segundos

SNC. Sistema nervioso central

SNP. Sistema nervioso periférico

SOD. Superóxido dismutasa

µv. Microvoltio

µm. Microméetro

Anexo 2. Test de Michigan

PARTE I "TEST DE MICHIGAN (MNSI)" (The Michigan Neuropathy Screening Instrument)

Nombre _____
Edad _____ Sexo _____ Duración DM _____

Instrucciones. (Debe completarse por las personas con Diabetes). Marque sí o no en función de cómo se sienten generalmente.

1. ¿Tiene las piernas y/o pies entumecidos?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
2. ¿Alguna vez ha tenido dolor de tipo ardor en piernas y/o pies?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
3. ¿Son sus pies demasiado sensibles al tacto?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
4. ¿Presenta calambres en sus piernas y/o pies?	__ (Si) 0 __ (No) 0		
5. ¿Presenta sensación de pinchazos en sus piernas o pies?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
6. ¿Siente dolor cuando las cubiertas de la cama tocan su piel?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
7. ¿Cuando se baña usted es capaz de detectar el agua caliente de la fría?	__ (Si) 0 __ (No) 1		
8. ¿Ha tenido alguna herida abierta en su pie?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
9. ¿Su médico le ha dicho que usted tiene neuropatía diabética?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
10. ¿Usted se débil la mayor parte del tiempo?	__ (Si) 0 __ (No) 0		
11. ¿Sus síntomas empeoran por la noches?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
12. ¿Le duelen las piernas cuando usted camina?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
13. ¿Es capaz de sentir sus pies cuando camina?	__ (Si) 0 __ (No) 1		
14. ¿La piel de sus pies se seca tanto que se agrieta?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
15. Alguna vez ha tenido una amputación?	__ (Si) 1 __ (No) 0		
Puntaje total máximo 13 puntos Una puntuación > 7 pts se considera anormal	Puntos	Puntos	

MNSI, © University of Michigan, 2000

PARTE II "TEST DE MICHIGAN (MNSI)" (The Michigan Neuropathy Screening Instrument)

Evaluación Física (Para ser completado por profesional de la salud)

PIE IZQUIERDO			PIE DERECHO		
Apariencia de los pies Normal __ Si (0) __ No (1)			Apariencia de los pies Normal __ Si (0) __ No (1)		
a) Deformidad __ -Dedos de martillo __ -Dedos sobrepuestos __ -Haluxvalgus __ -Subluxación de la articulación __ -Cabeza metatarsal prominente __ -Convexidad medial (pies de Charcot) __			a) Deformidad __ -Dedos de martillo __ -Dedos sobrepuestos __ -Haluxvalgus __ -Subluxación de la articulación __ -Cabeza metatarsal prominente __ -Convexidad medial (pies de Charcot) __		
b) Piel seca __			b) Piel seca __		
c) Infección __			c) Infección __		
d) Grietas __			d) Grietas __		
Otro _____			Otro _____		
2. Ulceración					
Ausente __ (0) Presente __ (1)			Ausente __ (0) Presente __ (1)		
3. Reflejo del tobillo o alquiliano					
Presente (0) __	Presente con refuerzo (0.5) __	Ausente (1) __	Presente (0) __	Presente con refuerzo (0.5) __	Ausente (1) __
4. Percepción de vibración del dedo gordo del pie					
Presente (0) __	Disminuido (0.5) __	Ausente (1) __	Presente (0) __	Disminuido (0.5) __	Ausente (1) __
5. Monofilamento					
Presente (0) __	Disminuido (0.5) __	Ausente (1) __	Presente (0) __	Disminuido (0.5) __	Ausente (1) __
Total : _____/5 puntos			Total : _____/5 puntos		

	Percepción de temperaturas					
	Pie izquierdo			Pie derecho		
	Frío	Ambiente	Caliente	Frío	Ambiente	Caliente
1. Antepié						
2. Mediopié						
3. Retropié						

Anexo 3. Preparación de soluciones para determinación de superóxido dismutasa

Solución WST

- a) Se toma 1mL de la solución WST
- b) Se diluye con 19 mL de la solución buffer.

Solución de trabajo

- a) Centrifugar la solución de enzima por 5 segundos
- b) Se toma 15 µl de la solución de enzima
- c) Se diluye con 2.5 mL de Buffer de dilución.

Realización de la curva estándar de SOD

Las soluciones se adicionaron en el siguiente orden: estándar de SOD: 200 U/ml, 100 U/ml, 50 U/ml, 20 U/ml, 10 U/ml, 5 U/ml, 1 U/ml, 0.1 U/ml, 0.05 U/ml, 0.01 U/ml y 0.001 U/ml.

Para las muestras se tomaron 20 µL del plasma, para colocarse en placas de 96 pozos (tres pozos por muestra). Se agregó además 200 µL de la solución de trabajo WST y 20 µL de la solución de enzima de trabajo, se incubó por 20 min a 37°C y se leyeron inmediatamente con las mismas condiciones utilizadas en la curva estándar.

Calcular la actividad de SOD (tasa de inhibición%) usando la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad SOD (tasa de inhibición\%)} = \{[(\text{Blanco 1} - \text{Blanco 3}) - (\text{Solución muestra} - \text{Blanco 2})] / (\text{Blanco 1} - \text{Blanco 3})\} \times 100$$

	Muestra	Blanco 1	Blanco 2	Blanco 3
Solución muestra	20 µl		20 µl	
Agua bidestilada (ddH ₂ O)		20 µl		20 µl
Solución WST	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
Solución de trabajo	20 µl	20 µl		
Dilución buffer			20 µl	20 µl

Anexo 4. Carta de aprobación de Bioética



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO FACULTAD DE MEDICINA

Santiago de Querétaro, Qro., a 30 de octubre del 2014.

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel
Clínica del Sistema Nervioso
FMUAQ
Presente:

En relación a la solicitud de revisión por parte del Comité de Bioética del proyecto denominado: **“Efecto de la administración de pirofosfato de tiamina (PPT) en la valoración clínica y velocidad de conducción nerviosa en pacientes con polineuropatía diabética”**, hago de su conocimiento que el pasado 8 de mayo de 2014, fue sometido para su evaluación y aprobado, el proyecto **“Efecto comparativo del tratamiento con pirofosfato de tiamina (PPT), carbamacepina y terapia láser en la valoración clínica y velocidad de conducción nerviosa en pacientes con polineuropatía diabética”**. Por este motivo, le comunico que el proyecto en cuestión, que se desprende del proyecto general que ya fue aprobado, no requiere una nueva evaluación y está avalado por la aprobación del proyecto inicial.

Por lo tanto, se cumplen con los requisitos estipulados y no existe ningún impedimento ético para que se lleve a cabo. Le solicitamos nos informe de las modificaciones del protocolo, su desarrollo, resultados y difusión de los mismos.

ATENTAMENTE
“POR LA VIDA Y LA SALUD”



DR. CÉSAR GUTIÉRREZ SAMPERIO
Presidente CBFMUAQ



Ccp: Archivo.

Anexo 5. Consentimiento informado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
Facultad de Medicina
Clínica del Sistema Nervioso

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nos complace informarle que Ud. ha sido invitado a participar en el estudio llamado “**Valoración del efecto electrofisiológico en pacientes con Polineuropatía diabética tratados con pirofosfato de tiamina (PPT)**”. El presente estudio tiene como finalidad valorar la eficacia de las terapias con PPT en la mejoría de la velocidad de conducción nerviosa en pacientes con polineuropatía diabética.

Procedimientos. Su participación en este estudio consta de los siguientes pasos: realización de historia clínica; extracción de una muestra sanguínea; caracterización antropométrica y determinación de signos vitales; estudio de velocidad de conducción nerviosa, aplicación intramuscular del pirofosfato de tiamina una vez a la semana y durante tres meses. Todos estos estudios se realizarán sin costo alguno para usted.

Participación voluntaria. Su participación es voluntaria; si desea retirarse del estudio, podrá hacerlo en cualquier momento (con previo aviso a los responsables del estudio) sin ninguna consecuencia para usted o sus familiares.

Reacciones y molestias. Al participar en el estudio podría presentar dolor leve en el sitio de la punción para la extracción sanguínea y existe un riesgo de la aparición de un hematoma (moretón) o una infección en el sitio de la punción; ligera incomodidad al colocarle electrodos en su piel; los electrodos se adhieren con pasta y cinta micropore, cuyos residuos se eliminan con el lavado; cansancio leve durante los estudios de neurodiagnóstico. Durante los estudios de velocidad de conducción nerviosa sentirá impulsos eléctricos leves (“toques”). El personal que lo atenderá durante su estancia en la Clínica del Sistema Nervioso está capacitado para el manejo clínico de pacientes y es experto en las técnicas aplicadas. En todo momento estará bajo vigilancia médica.

Confidencialidad y resultados. Se realizará un manejo confidencial de todos sus datos personales y clínicos, los cuales serán utilizados exclusivamente para fines de investigación. Los resultados le serán entregados por escrito si usted así lo desea para poder consultarlos con su médico tratante.

Responsables. Los responsables del estudio son: Dr. Hebert Luis Hernández Montiel (cel. 442 157 81 44), Méd. Esp. Liane Aguilar Fabrè y Méd. Esp. René Francisco Rodríguez Valdés (cel. 442 187 73 56), LN. Itzelly Ibarra Valdovinos (Cel. 4424694282) Docentes-Investigadores. Adscritos a la Clínica del Sistema Nervioso de la Facultad de Medicina de esta Universidad. Puede resolver dudas, solicitar aclaraciones o consultar por reacciones o molestias con cualquiera de los responsables o al teléfono 192 12 00 extensión 6252.

Firmas de conformidad

Yo (escribir nombre completo y firma del participante en el estudio):

_____, declaro libre
y voluntariamente que acepto participar en el presente estudio.

Nombre y firma del padre, madre, familiar responsable, tutor o representante legal:

_____.

Nombre y firma del Investigador:

_____.

Testigo 1. Nombre y firma:

_____.

Testigo 2. Nombre y firma:

_____.

Santiago de Querétaro, Qro., a _____ de _____ de 20_____.

Anexo 6. Normas para estudios conducción nerviosa periférica

NERVIO PERONEO PROFUNDO (MOTOR)													
	Parámetro	Latencia (ms)			Duración (ms)			Amplitud (m v o μ v)			Velocidad de conducción nerviosa (m/s)		
		68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%
Adulto		68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%
	Proximal	12.5	13.7	14.9	14.1	15.9	17.6	Normal + 1 mV			46.8	39.6	32.3
	Distal	5.92	5.5	7.48	13.1	14.6	16.2	Kim, + 2.5 mV			Kim, + 40 m/s		
Nota. En adultos mayores de 60 años puede no encontrarse respuesta													
NERVIO SURAL (SENSITIVO)													
	Parámetro	Latencia (ms)			Duración (ms)			Amplitud (m v o μ v)			Velocidad de conducción nerviosa (m/s)		
		68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%
Adulto		68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%	68%	95%	99%
	Kimura	3.0	3.3	3.6				12.9	5.0		46.9	41.3	35.7
		3.1	3.4	3.7				10.5	3.8		45.2	39.3	33.4
	Nodarse	2.06	2.48	2.90	2.41	2.83	3.25	Hasta 5 μ V			50.7	36.4	22.0
	Katirji	4.6						≥ 6		≥ 3	> 40		
Nota. En adultos mayores de 60 años puede no encontrarse respuesta													

Fuente. Kimura, 2013