

Ignacio Iván
Álvarez Rodríguez

Identificación de un panel de biomarcadores de Pie Diabético
en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2

2019



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Identificación de un panel de biomarcadores de Pie
Diabético en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el
grado de

Maestro en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta

Ignacio Iván Álvarez Rodríguez

Dirigido por

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Querétaro, Qro. 2019.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana

Identificación de un panel de biomarcadores de Pie Diabético en pacientes con
Diabetes Mellitus Tipo 2

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta:

Ignacio Iván Álvarez Rodríguez

Dirigido por:

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

SINODALES

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Presidente

Dra. Juana Elizabeth Elton Puente
Secretario

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Vocal

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Suplente

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

2019

México

Dedicatorias

A todas las personas que luchan día tras día con la complicación de Pie Diabético, a todos los voluntarios que me permitieron realizarles las pruebas pertinentes y al misterio de su dolor.

Va por ustedes.

Dirección General de Bibliotecas UAG

Agradecimientos

Así como en mi tesis de grado de licenciatura, y siguiendo lo acuñado en el lema de mi universidad: “Educo en la verdad y en el honor”, agradeceré y daré honor a quien honor merece.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por ser mi alma mater, a la Facultad de Ciencias Naturales por seguir siendo semillero de ideales y profesionales; y a la Facultad de Química por permitirme realizar parte de mi trabajo en sus instalaciones.

A la Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez, por la dirección del presente trabajo y confiar en la propuesta de “Pie Diabético” y en mí para su realización.

A mis sinodales. A la Dra. Juana Elizabeth Elton Puente por su aporte en la elaboración de expedientes y por seguir siendo a pesar del tiempo una gran amiga y ejemplo académico y profesional; a la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por permitirme el ingreso a las instalaciones de su laboratorio para almacén y preparación de muestras del presente trabajo y permitirme conocer a sus alumnos que fueron una gran experiencia en este viaje; al Dr. Eduardo Castaño Tostado por sus conocimientos estadísticos y participación en el análisis de datos; y finalmente al Dr. Roberto Augusto Ferriz por sus observaciones a lo largo del proceso de realización de esta tesis. Muchas gracias a todos y cada uno de ustedes.

A mis padres por apoyarme en esta etapa; gracias mamá por la paciencia y ánimo brindado; gracias papá por los consejos y ser mi héroe. Gracias a ambos por darme todo y por ser tan increíbles. A mi hermana mayor gracias por crecer conmigo y ser cómplice de travesuras; a mi hermana menor gracias por la energía y recientemente por recordarme como inicia todo: con un sueño; a ambas, Candy y Wendy, por compartir la misma sangre, los mismos apellidos y ser mis aliadas en la vida. Estoy seguro que de todas las palabras que forman nuestro lenguaje, estas son las más indicadas que les puedo dedicar a ustedes cuatro: siempre los amare.

A todos los voluntarios que me permitieron trabajar con sus heridas, gracias.

A los compañeros de maestría por las horas compartidas dentro y fuera del aula; también a mis nuevos amigos, la banda oscura que conocí en las instalaciones del laboratorio de bioquímica molecular: Alexandro, Elizabeth, Gersaín, Julito, Yuridia, Alejandra, Julio, Haiku, Karen, Maggie, Gloria, Mariana, Nayeli y Rudi, gracias por adoptarme y por todos los momentos compartidos y por enseñarme un montón de cosas nuevas. Gracias a todos.

A todo aquel que decida hacer investigación en las extremidades inferiores, que casi no se ven pero merecen ser mirados.

A quien veo en el espejo, a mí, por ejercer mi derecho a soñar.

Agradezco a CONACYT por la beca otorgada en los dos años que cursé la maestría, de igual manera al Hospital General de Querétaro por permitirme realizar el reclutamiento del presente trabajo dentro de sus instalaciones, y al personal de la Clínica de Heridas perteneciente a la misma institución: MHEQ Alicia Barajas Pozos, MHEQ María Eugenia García Aguilar y MHEQ María Rosario Arreola Morales.

Finalmente, y al igual que en mi tesis de licenciatura, sigo con la palabra de acercarme a la certeza de que otro mundo es posible y de estar dispuesto a trabajar con más ánimo que nunca y a hacer afanosamente desde mi trinchera lo que me corresponde para que el futuro sea lo que me imagino, es una promesa.

Nacho.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1. DIABETES MELLITUS.....	4
2.1.1. <i>Epidemiología de la Diabetes Mellitus</i>	4
2.1.2. <i>Diabetes Mellitus en México</i>	5
2.1.3. <i>Clasificación de la Diabetes Mellitus</i>	8
2.1.3.1. Diabetes Gestacional	8
2.1.3.2. Diabetes Mellitus Tipo 1	8
2.1.3.3. Diabetes Mellitus Tipo 2	10
2.1.3.3.1. Diagnóstico de Diabetes Mellitus Tipo 2	11
2.1.3.4. Otros tipos de Diabetes Mellitus	11
2.1.4. <i>Complicaciones en Diabetes Mellitus</i>	11
2.1.4.1. Pie Diabético	12
2.1.4.1.1. Epidemiología del Pie Diabético	13
2.1.4.1.2. Pie Diabético en México	15
2.1.4.1.3. Úlceras de Pie <i>Diabético</i>	15
2.1.4.1.4. Factores de riesgo de Pie Diabético.....	15
2.1.4.1.5. Lesión en Pie Diabético.....	17
2.1.4.1.5.1. Isquemia	18
2.1.4.1.5.2. Neuropatía.....	19
2.1.4.1.6. Evaluaciones sensoriales en Pie Diabético	20
2.1.4.1.6.1. Evaluación de reflejo Aquileo	22
2.1.4.1.6.2. Evaluación con diapasón 128 Hz.....	22
2.1.4.1.6.3. Evaluación con monofilamento de Semmes-Weinstein 7.5/10 g	23
2.1.4.1.7. Herramientas de clasificación y pronóstico de Pie Diabético	26
2.1.4.1.7.1. Sistema de clasificación de heridas de Wagner-Megitt	27
2.1.4.1.7.2. Sistema de clasificación de heridas diabéticas de la Universidad de Texas	28
2.1.4.1.7.3. Clasificación de San Elián	29
2.2. CIENCIAS ÓMICAS	31
2.2.1. <i>Clasificación de ciencias ómicas</i>	33
2.2.1.1. Genómica.....	33
2.2.1.2. Metagenómica.....	34
2.2.1.3. Epigenética	34
2.2.1.4. Transcriptómica	34
2.2.1.5. Proteómica.....	34
2.2.1.6. Metabolómica.....	35
2.3. BIOMARCADORES	36
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	39
4. JUSTIFICACIÓN.....	40
5. OBJETIVOS	41
5.1. OBJETIVO GENERAL	41
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41

6. MÉTODOS	42
6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	42
6.1.1. <i>Consideraciones éticas y registro del estudio</i>	42
6.2. MUESTRA.....	43
6.2.1. <i>Criterios de inclusión</i>	43
6.2.2. <i>Criterios de exclusión</i>	44
6.2.3. <i>Criterios de eliminación</i>	44
6.2.4. <i>Criterios de cambio de grupo de estudio</i>	44
6.3. RECLUTAMIENTO	45
6.3.1. <i>Recolección de información y toma de muestra</i>	45
6.4. PRUEBAS SENSORIALES.....	46
6.4.1. <i>Evaluación sensorial de presión con Monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g</i>	47
6.4.2. <i>Evaluación sensorial de vibración con Diapasón de 128 Hz</i>	47
6.4.3. <i>Evaluación de reflejo Aquileo con Martillo Neurológico</i>	48
6.5. TOMA DE MUESTRA DE SANGRE	48
6.6. ANÁLISIS BIOQUÍMICO	49
6.7. ANÁLISIS METABOLÓMICO	49
6.7.1. <i>Preparación de muestras</i>	49
6.7.1.1. <i>Separación de fases: polar y apolar</i>	50
6.7.2. <i>Preparación de fases</i>	52
6.7.3. <i>Análisis metabólico por UPLC-QTOF MS^E</i>	53
6.8. ANÁLISIS DE DATOS	54
6.8.1. <i>Análisis de evaluación sensorial</i>	54
6.8.2. <i>Análisis de datos químico sanguíneos</i>	54
6.8.3. <i>Análisis metabólico</i>	55
6.8.3.1. <i>Procesamiento de datos</i>	55
6.8.3.2. <i>Análisis multivariado</i>	55
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
7.1. HERRAMIENTA DE CLASIFICACIÓN DE PIE DIABÉTICO	56
7.2. MUESTRA.....	56
7.2.1. <i>Sexo</i>	57
7.2.2. <i>Edad</i>	58
7.3. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS.....	58
7.3.1. <i>Hemoglobina glicosilada</i>	58
7.3.2. <i>Glucosa</i>	60
7.3.3. <i>Urea</i>	63
7.3.4. <i>Creatinina</i>	65
7.3.5. <i>Ácido úrico</i>	67
7.3.6. <i>Colesterol</i>	69
7.3.7. <i>Triglicéridos</i>	70
7.4. EVALUACIONES.....	72
7.4.1. <i>Monofilamento de Semmes—Weinstein de 7.5/10 g</i>	72
7.4.2. <i>Diapasón de 128 Hz</i>	74
7.4.3. <i>Reflejo Aquileo con martillo neurológico</i>	75
7.5. ANÁLISIS METABOLÓMICO	77
7.5.1. <i>Análisis multivariado</i>	77

7.5.1.1.	Compuesto_1.....	79
7.5.1.2.	Compuesto_2.....	80
7.5.1.3.	Compuesto_3.....	82
7.5.1.4.	Compuesto_4.....	83
7.5.1.5.	Compuesto_5.....	84
7.5.1.6.	Compuesto_6.....	84
7.5.1.7.	Compuesto_7.....	86
7.5.1.8.	Compuesto_8.....	87
7.5.1.9.	Compuesto_9.....	88
7.5.1.10.	Compuesto_10.....	89
8.	CONCLUSIONES.....	90
9.	REFERENCIAS.....	91
10.	ANEXOS.....	106

Dirección General de Bibliotecas UAC

Índice de cuadros

CUADRO 1. TRANCISIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA DIABETES MELLITUS COMO CAUSA DE MUERTE A LO LARGO DEL TIEMPO POR EDAD Y SEXO	6
CUADRO 2. PRINCIPALES CAUSAS DE MUERTE EN MÉXICO EN EL 2017	6
CUADRO 3. PRINCIPALES CAUSAS DE MUERTE EN MÉXICO EN EL RANDE DE EDAD DE 45-64 AÑOS.....	7
CUADRO 4. DEFINICIONES DE PIE DIABÉTICO REPORTADAS EN LA LITERATURA CONSULTADA	13
CUADRO 5. CONDICIONES DE GRADIENTE DE LA FASE MÓVIL DEL AALISIS POR UPLC	53
CUADRO 6. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIORIZQUIERDA CON MONOFILAMENTO DE SEMMES-WEINSTEIN DE 7.5/10 G.	73
CUADRO 7. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIOR DERECHA CON MONOFILAMENTO DE SEMMES-WEINSTEIN DE 7.5/10 G.....	73
CUADRO 8. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIOR IZQUIERDA CON SIAPASÓN DE 128 HZ	74
CUADRO 9. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIOR DERECHA CON DIAPASÓN DE 128 HZ	74
CUADRO 10. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIOR IZQUIERDA CON MARTILLO NEUROLÓGICO.....	75
CUADRO 11. COMPORTAMIENTO SENSORIAL DE EXTREMIDAD INFERIOR DERECHA CON MARTILLO NEUROLÓGICO.....	76
CUADRO 12. DIES VARIABLES CON MAYOR VIP SCORE OBTENIDAS DEL ANÁLISIS MULTIVARIADO POR PLS-DA	78

Dirección General de Bibliotecas UNAM

Índice de figuras

FIGURA 1. CLASIFICACIÓN DE HERIDAS DE PIE DIABÉTICO DE WAGNER-MEGGITT.	28
FIGURA 2. CLASIFICACIÓN DE LESIONES DE PIE DIABÉTICO DE LA UNIVERSIDAD DE TEXAS	29
FIGURA 3. CLASIFICACIÓN DE SAN ELIÁN PARA HERIDAS DE PIE DIABÉTICO.	30
FIGURA 4. PUNTOS DE EVALUACIÓN DEL MONOFILAMENTO DE SEMMES-WEINSTEIN 7.5/10G.....	47
FIGURA 5. PUNTO DE EVALUACIÓN DEL DIAPASÓN DE 128 HZ.....	48
FIGURA 6. SITIO DE EVALUACIÓN DEL REFLEJO AQUILEO CON MARTILLO NEUROLÓGICO.....	48
FIGURA 7. SEPARACIÓN DE FASES DURANTE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE LAS MUESTRAS SÉRICAS	50
FIGURA 8. RECOLECCIÓN DE FASES POLARES DE LAS MUESTRAS SERICAS	50
FIGURA 9. FASES POLARES DE LAS MUESTRAS SÉRICAS CONCENTRADAS AL VACÍO	51
FIGURA 10. INSERTO CON VIAL LISTO PARA INYECCIÓN EN EL UPLC-QTOF MS ^E	51
FIGURA 11. VISUALIZACIÓN REAL DE LA ESCALA DE CLASIFICACIÓN DE WAGNER-MEGGITT	56
FIGURA 12. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	57
FIGURA 13. DISTRIBUCIÓN DE SEXO EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO	57
FIGURA 14. EDAD MEDIA POR GRUPOS DE ESTUDIO.	58
FIGURA 15. CONCENTRACIÓN MEDIA DE HBA1C POR GRUPO DE ESTUDIO	59
FIGURA 16. CONCENTRACIÓN MEDIA DE GLUCOSA POR GRUPO DE ESTUDIO.....	61
FIGURA 17. DESARROLLO DE NEUROPATÍA DIABÉTICA A PARTIR DE HIPERGLUCEMIA CRÓNICA	62
FIGURA 18. CONCENTRACIÓN MEDIA DE UREA POR GRUPO DE ESTUDIO	63
FIGURA 19. CONCENTRACIÓN MEDIA DE CREATININA POR GRUPO DE ESTUDIO	65
FIGURA 20. CONCENTRACIÓN MEDIA DE ÁCIDO ÚRICO POR GRUPO DE ESTUDIO	67
FIGURA 21. RELACIÓN ENTRE ÁCIDO ÚRICO Y LAS COPMLICACIONES MICROVASCULARES ASOCIADAS AL PIE DIABÉTICO	68
FIGURA 22. CONCENTRACIÓN MEDIA DE COLESTEROL POR GRUPO DE ESTUDIO	69
FIGURA 23. CONDNRACIÓN MEDIA DE TRIGLICÉRIDOS POR GRUPO DE ESTUDIO.....	70
FIGURA 24. ANÁLISIS DISCRIMINANTE DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (PLS-DA) DEL PERFIL METABOLÓMICO DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO	78
FIGURA 25. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_1	79
FIGURA 26. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_1 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	80
FIGURA 27. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_2	80
FIGURA 28. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_2 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	81
FIGURA 29. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_3	82
FIGURA 30. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_3 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DEE STUDIO	83
FIGURA 31. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_4 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	83
FIGURA 32. ESTRUCTURA TENTATIVADEL COMPUESTO_5	84
FIGURA 33. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_5 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	84
FIGURA 34. ESTRUCTURA TENTATIVADEL COMPUESTO_6	85
FIGURA 35. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_6 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	85
FIGURA 36. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_7	86
FIGURA 37. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_7 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	86
FIGURA 38. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_8	87
FIGURA 39. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_8 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	87
FIGURA 40. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_9	88
FIGURA 41. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_9 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO	88
FIGURA 42. ESTRUCTURA TENTATIVA DEL COMPUESTO_1	89

FIGURA 43. ABUNDANCIA DEL COMPUESTO_10 EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO.....89

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Índice de anexos

ANEXO 1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LOS PROCESOS PARA LA APROBACIÓN DE COMITÉS ACADÉMICOS E INSTITUCIONALES; ASÍ COMO EL REGISTRO.....	106
ANEXO 2. TRÍPTICO DE INVITACIÓN PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO.....	107
ANEXO 3. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	108
ANEXO 4. HISTORIA CLÍNICA DE SINDM2.....	111
ANEXO 5. HISTORIA CLÍNICA DE DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5.....	114
ANEXO 6. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE RECLUTAMIENTO, CAPTURA DE DATOS, TOMA DE MUESTRA DE SANGRE, SOLICITUD DE ANÁLISIS Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS. .	119
ANEXO 7. PROCESO DE SEPARACIÓN, RESUSPENSIÓN DE FASES Y PREPARACIÓN EN VIAL ÁMBAR.....	120
ANEXO 8. PROCESO DE SEPARACIÓN DE FASES MÓVILES PARA EL ANÁLISIS METABOLÓMICO.....	121

Dirección General de Bibliotecas UAG

Resumen

Introducción: El pie diabético (PD) es una complicación importante en la población con diabetes mellitus (DM), la cual conlleva a la amputación de miembros. Actualmente, el PD es diagnosticado por medio de la evaluación física de los pies utilizando principalmente la escala de Wagner; sin embargo, es necesario la presencia de lesiones visibles para el diagnóstico de PD, por lo que representa un diagnóstico tardío, lo que está asociado al alto índice de amputaciones. Es por ello que es de creciente interés la búsqueda de biomarcadores en fluidos biológicos, como muestras sanguíneas, que permita el diagnóstico oportuno del PD, lo cual puede ser obtenido por medio de análisis metabólicos. **Objetivo general:** Identificar biomarcadores para el diagnóstico temprano y de progresión del PD. **Métodos:** El diseño del estudio fue observacional, transversal y comparativo. Se reclutaron personas aparentemente sanas y con DM tipo 2, a las cuales se les realizó el diagnóstico de PD de acuerdo a la escala de Wagner (0-5). Se obtuvieron muestras sanguíneas para el análisis bioquímico y el análisis metabólico de fases polares en un equipo de UPLC-QTOF MS^E. Se realizó el pre-procesamiento de datos (selección de aductos y alineamiento, selección y deconvolución de picos) mediante el software Progenesis Q1. Posteriormente, los datos fueron sometidos a un Análisis Discriminante de Cuadrados Mínimos Parciales (PLS-DA) utilizando el paquete MixOmics del software R. **Resultados:** Se reclutaron 30 voluntarios sanos, 11 con PD con escala de Wagner 0 (sin lesiones visibles) y 58 con PD con escala de Wagner 1-5. El análisis metabólico seguido del análisis multivariado permitió una ligera discriminación de los individuos en tres grandes grupos: sanos, DM tipo 2 y PD (estadios 1, 2 y 3). Sin embargo, no se observaron diferencias en los perfiles metabólicos entre los estadios 1, 2 y 3 de PD. Se identificaron 10 metabolitos que presentaron el mayor impacto en la discriminación de grupos observada en el PLS-DA, los cuales incluyeron dos triglicéridos, siete fosfolípidos y un compuesto sin identificar. **Conclusión:** El análisis metabólico indicó que el desarrollo de DM tipo 2 altera metabolitos involucrados principalmente en el metabolismo de lípidos, los cuales se encuentran alterados en mayor medida cuando el individuo desarrolla PD; sin embargo, no se observa una relación con respecto a la progresión del PD.

Palabras clave: pie diabético; diabetes mellitus tipo 2; biomarcadores, metabólica.

Abstract

Introduction: Diabetic foot (DF) is an important complication developed in people with Diabetes Mellitus (DM), leading to limb amputations. Nowadays, the DF is diagnosed through the physical evaluation of feet using mainly the Wagner scale; however, it is necessary the presence of visible lesions for the diagnosis of DF, therefore, this strategy represents a late diagnose, leading to a high number of amputations. Thus, there is an increasing interest in the search of biomarkers in biological fluids, such as blood samples, that will allow the early diagnose of Diabetic foot, which can be achieved through metabolomics. **General aim:** To identify biomarkers for the early diagnosis and progression of DF. **Methods:** The study design was observational, cross-sectional, and comparative. Individuals apparently healthy and with type 2 DM were recruited, and DF was diagnosed using the Wagner scale. Blood samples were withdrawn for the analysis of biochemical parameters and the metabolomic profile of the polar phase using an UPLC-QTOF MS^E system. Data were processed (adduct selection and peak selection, alignment, and deconvolution) using the Progenesis QI software. Then, data were subjected to Partial-Least Square-Discriminant Analysis (PLS-DA) using the MixOmics package of R software. **Results:** 30 healthy individuals, 11 individuals with Wagner scale 0 of DF (no visible lesions), and 58 individuals with Wagner scale 1-5 of DF were recruited. The metabolomic profiling followed by the multivariate analysis allowed a slight discrimination of the participants of the study in three groups: healthy, Wagner 0 scale of DF, and Wagner 1, 2, and 3 scale of DF. However, no differences were observed in the metabolic profiles between Wagner scale 1, 2, and 3 of DF. Ten metabolites were identified as the main contributors of groups discriminations in the PLS-DA, which included two triglycerides, seven phospholipids, and one non-identified compound. **Conclusion:** The metabolomic analysis showed that the development of type 2 DM alters metabolites involved mainly in lipid metabolism, which were greatly altered with the development of DF; however, no lineal relationship was observed with the progression of this disease.

(Keywords: Diabetic Foot, Type 2 Diabetes Mellitus; Biomarkers, Metabolomics).

1. INTRODUCCIÓN

La primera causa de muerte en México en personas de 45-64 años de edad es la DM, esta enfermedad tiene como característica epidemiológica que no disminuye en frecuencia, intensidad, ni gravedad debido a las cifras reportadas. Dentro de las complicaciones de la DM se encuentran el daño a los nervios y el daño a vasos sanguíneos, las cuales generan las úlceras características del PD.

El PD es la segunda causa de amputaciones después de eventos traumáticos. Las personas que la padecen tienen mayor discapacidad, morbilidad y mortalidad y es tardíamente diagnosticado, esto genera que los pacientes estén en un riesgo importante de amputación.

Existen herramientas para evaluar y clasificar heridas de PD, así como para pronosticar su progresión. Las más usadas para clasificación de heridas son: el sistema de clasificación de heridas de Wagner, que tiene la desventaja de no abordar todas las ulceraciones e infecciones y no incluye pruebas de sensibilidad; y el Sistema de clasificación de heridas diabéticas de la Universidad de Texas, que de igual manera no toma en cuenta la sensibilidad; por otra parte, para progresión de heridas existe la clasificación de San Elián, la cual se encarga de la evaluación de una herida ya existente. A pesar de estas herramientas, no hay una herramienta de prevención temprana para esta complicación.

Las ciencias ómicas permiten aumentar el conocimiento de temas biológicos y permiten la búsqueda de biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de enfermedades. Un biomarcador es cualquier sustancia, estructura o proceso que puede medirse en el cuerpo o sus productos e influir o predecir la incidencia del resultado o la enfermedad. La propuesta de esta investigación es hacer uso de las ciencias ómicas, específicamente de metabolómica, para identificar biomarcadores para esta complicación de la Diabetes Mellitus.

2. ANTECEDENTES

2.1. Diabetes Mellitus

La DM es un trastorno metabólico crónico, complejo y heterogéneo. Se caracteriza por una hiperglucemia crónica (elevación de glucosa en sangre), deficiencia absoluta o relativa de insulina (Muñoz *et al.*, 2004), y alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas (Muñoz *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2018). Estas alteraciones afectan todos los órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón, vasos sanguíneos (Prieto-Gómez *et al.*, 2017) y tejidos del cuerpo, tanto a niños como adultos, jóvenes y mujeres embarazadas (Corrales., 2014).

2.1.1. Epidemiología de la Diabetes Mellitus

Para poder comprender la importancia del papel del comportamiento y morbilidad de la DM, es necesario observar y analizar su transición demográfica y epidemiológica (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008) a través del tiempo. Los datos arrojados por el órgano oficial de difusión de la Comisión Nacional de Arbitraje Médico (CONAMED) obtenidos por Arboleya-Casanova y Morales-Andrade (2008) reportaron que en el año 1985 había 30 millones de personas y que en 1995 esta cifra aumentó a 135 millones (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008); posteriormente en el año 2000, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que la cifra de personas con DM fue de 171 millones; subsiguientemente, Sharma *et al.* (2018) mencionan que para el año 2011 se estimaron un total de 366 millones de personas con DM, de las cuales 4.6 millones murieron por esta enfermedad (Sharma *et al.*, 2018); más tarde, en el 2013, la Federación Internacional de Diabetes (FID) informó que las consecuencias de la DM sobre la salud de la población no solo se mantienen, sino que aumentan; además, en ese mismo año se reportó la muerte de 5.1 millones de personas, costando 548 billones de dólares; posteriormente (y de nuevo la FID), reportó una incidencia de 382 millones de personas con esta enfermedad y estimó que cada 6 segundos fallece alguien con DM (Corrales ., 2014).

En cuanto a proyecciones, para el año 2025 Arboleya-Casanova y Morales-Andrade (2008) estimaron que la cifra de personas con DM será de 300 millones (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008). Y finalmente, las proyecciones de personas con DM para el año 2030 varían de autor a autor, ya que por un lado Corrales (2014) estimó que la cifra será de 592 millones (More E, 2014), mientras que Sharma *et al.* (2018) estimaron una cantidad de 439 millones de personas (Sharma *et al.*, 2018).

2.1.2. Diabetes Mellitus en México

En México, la prevalencia de DM es alta. En el año 2008 se estimó que el 8% de la población entre 20 y 69 años de edad la padecían, de las cuales el 30% ignoraba tenerla; luego en el año 2001 fueron reportados con DM un total de 4.8 millones de personas, de las cuales 1.4 millones no habían sido diagnosticados, impidiendo así la correcta aplicación de algún tratamiento (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008).

En cuanto al comportamiento epidemiológico de la DM, con la información proporcionada por las diferentes encuestas nacionales, se ha reportado una tendencia al incremento a lo largo del tiempo: En el año 2000, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) reportó 5.8% de personas con DM2 (ENSA, 2000); cifra que aumentó al 7% según los datos arrojados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en el año 2006 (ENSANUT, 2006); posteriormente la encuesta homónima pero del año 2012 arrojó una estimación de 9.2% de personas con DM2 (ENSANUT, 2012); y finalmente, la misma encuesta pero del año 2016 calculó un 9.4% de personas con DM2 (ENSANUT., 2016).

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) ha reportado el comportamiento de la DM como causa de muerte a través de los años separando a la población en grupos de edad y sexo; comportamiento que muestra una tendencia a la alta y colocándose en el primer lugar de causa de muerte desde el año 2000 hasta el año 2015 (Véase Cuadro 1).

Cuadro 1. Trancisión epidemiológica de la Diabetes Mellitus como causa de muerte a lo largo del tiempo por edad y sexo

Año	Total				Mujeres				Hombres			
	Total	25-34 años	35-44 años	45-64 años	Total	25-34 años	35-44 años	45-64 años	Total	25-34 años	35-44 años	45-64 años
1995	3	9	6	2	8	8	4	2	5	8	7	3
2000	2	8	6	2	3	6	3	2	4	8	7	3
2005	2	8	5	1	2	5	2	1	3	8	6	1
2010	2	8	6	1	2	6	2	1	2	8	5	1
2013	2	8	6	2	2	5	2	2	2	8	5	1
2014	2	8	6	2	2	6	2	1	2	8	5	1
2015	2	8	6	1	2	5	2	1	2	8	5	1

(INEGI, 2015)

En la última actualización de INEGI se reportó que la DM dentro de las primeras diez causas de muerte en hombres y mujeres (Véase Cuadro 2).

Cuadro 2. Principales causas de muerte en México en el 2017

Lugar	Total	Hombres	Mujeres
1	Enfermedades del corazón	Enfermedades del corazón	Enfermedades del corazón
2	Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus
3	Tumores malignos	Tumores malignos	Tumores malignos
4	Enfermedades del hígado	Agresiones (homicidios)	Enfermedades cerebrovasculares
5	Accidentes	Enfermedades del hígado	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas
6	Enfermedades cerebrovasculares	Accidentes	Enfermedades del hígado
7	Agresiones (homicidios)	Enfermedades cerebrovasculares	Influenza y neumonía
8	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	Influenza y neumonía	Accidentes
9	Influenza y neumonía	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	Insuficiencia renal
10	Insuficiencia renal	Ciertas afecciones originadas en el periodo perinatal	CAafecciones originadas en el periodo perinatal

(INEGI., 2018)

En ese reporte separando sexo y rangos de edad y en el rango de 45-64 años, la DM fue la prime (Véase Cuadro 3).

Cuadro 3. Principales causas de muerte en México en el rango de edad de 45-64 años

Rango	45-54 años	55-64 años
1	Diabetes mellitus	Diabetes Mellitus
2	Tumores malignos	Enfermedades del corazón
3	Enfermedades del corazón	Tumores malignos
4	Enfermedades del hígado	Enfermedades del hígado
5	Accidentes	Enfermedades cerebrovasculares
6	Agresiones (homicidios)	Accidentes
7	Enfermedades cerebrovasculares	Influenza y neumonía
8	Influenza y neumonía	Insuficiencia renal
9	Insuficiencia renal	Agresiones (homicidios)
10	Enfermedad por virus de la inmunodeficiencia humana	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas

(INEGI., 2018)

Los cambios en este comportamiento epidemiológico pueden deberse según menciona la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC), a las modificaciones en la estructura poblacional, esto es, a los cambios demográficos en general y al incremento en el promedio de la esperanza de vida (ENEC, 1993).

Las cifras de DM reportadas pueden deberse a que, dado que es una enfermedad incurable, las personas que la padecen deben estar bajo tratamiento para toda la vida y determina que muchos con el transcurso del tiempo manifiesten baja adherencia al tratamiento y se refleja en un deficiente control metabólico, en

complicaciones y en la cantidad de afectados que acuden a los servicios de salud, de los cuales solo del 25% al 40% tienen un control metabólico de la enfermedad (NOM-015-SSA-199; ENSA., 2000).

Estos datos revelan que se está viviendo una pandemia de esta enfermedad (Prieto-Gómez *et al.*, 2017), sirven como evidencia de la velocidad de su incremento (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008), y confirman que la DM es una de las enfermedades crónicas más serias.

Es así que su característica epidemiológica es que no disminuye en frecuencia, intensidad ni gravedad (Corrales, 2014).

2.1.3. Clasificación de la Diabetes Mellitus

A pesar de sus diferentes manifestaciones, la DM puede ser clasificada en tres categorías:

- Diabetes gestacional (DMG).
- Diabetes Tipo 1 (DM1).
- Diabetes tipo 2 (DM2).

2.1.3.1. Diabetes Gestacional

Es un grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo (Sharma *et al.*, 2018), específicamente en el segundo o tercer trimestre; se debe a causas como el síndrome oncogénico de DM (ADA., 2018a).

2.1.3.2. Diabetes Mellitus Tipo 1

También recibe el nombre de “Diabetes Juvenil” (Sharma *et al.*, 2018). Tiene como característica una deficiencia absoluta de insulina debido la destrucción de las células β pancreáticas, dicha destrucción tiene múltiples predisposiciones genéticas y se relaciona con factores ambientales que aún no están definidos (ADA., 2018a; Sharma *et al.*, 2018). Ocurre del 1-5% de los casos totales de DM (ADA., 2018a) y

en México en el año 2018 representó el 1.9% de las defunciones totales asociadas con DM (INEGI, 2018).

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) distingue tres estadios en DM1:

- Estadio 1: Caracterizada por autoinmunidad, normo glucemia y es pre sintomática.
 - Criterios de diagnóstico: estudio de anticuerpos, glucosa en ayuno alterada y tolerancia a la glucosa alterada.
 - Estadio 2: Caracterizada por autoinmunidad, disglucemia y es pre sintomática.
 - Criterios de diagnóstico:
 - Múltiples anticuerpos.
 - Tolerancia a la glucosa alterada.
 - Glucosa plasmática en ayunas (100-125 mg/dl o 5.6-6.9 mmol/L).
 - Glucosa en plasma de dos horas (140-199 mg/dl o 7.8-11 mmol/L).
 - HbA1c (5.7-6.4% o 39-47 mmol/L); o aumento de 10%.
 - Estadio 3: Se caracteriza por hiperglucemias de nueva aparición y es sintomática.
 - Criterios de diagnóstico: síntomas clínicos y diabetes por criterio estándar.
- (ADA., 2018a).

En DM1 se presenta poliuria (excreción muy abundante de orina), polidipsia (necesidad urgente y exagerada de beber agua) y una tercera parte presenta cetoacidosis diabética (Dabelea *et al.*, 2014; ADA, 2018a).

2.1.3.3. Diabetes Mellitus Tipo 2

Conocida también como “Diabetes de Adultos”, es ocasionada por un defecto progresivo en la secreción de insulina de las células β pancreáticas, ocasionando (a diferencia de DM1 donde la deficiencia es absoluta) una deficiencia de insulina relativa (Sharma *et al.*, 2018).

Una de las razones por la que DM2 no se diagnostica a tiempo es porque la hiperglucemia (derivada de la baja secreción de insulina) se desarrolla gradualmente, por lo que en etapas tempranas no es lo suficientemente grave como para que el paciente note los síntomas; esto es importante, ya que si bien (inicialmente y con frecuencia) a lo largo de su vida las personas con DM2 no necesitan insulino terapia, al no ser diagnosticadas tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones macro y micro vasculares; además, el riesgo de desarrollar DM2 aumenta con la edad, el sedentarismo y la obesidad (especialmente obesidad abdominal y visceral); y con un conjunto de alteraciones (Prieto-Gómez *et al.*, 2017) denominadas Síndrome metabólico (SM), caracterizado por un aumento en la concentración de colesterol, triglicéridos, presión arterial y glucosa en sangre (ADA., 2018a; Sharma *et al.*, 2018); sin embargo, si bien no todos los pacientes con DM2 tienen sobrepeso o son obesos (ADA., 2018a), el SM predispone para desarrollar DM2 (Prieto-Gómez *et al.*, 2017).

Pérez (2009) distingue 3 fases de DM2:

- Fase 1: Resistencia periférica a la insulina asociada a valores de normo glicemia.
- Fase 2: También llamada “insulino resistencia”. Está marcada a nivel de los tejidos periféricos (músculo y tejido adiposo), generando una sobreproducción de insulina que no alcanza a realizar la homeostasis de la glucosa (homeostasis postprandial).
- Fase 3: Está asociada a la declinación en el funcionamiento de las células β pancreáticas.

La DM2 representa 90-95% de toda la DM (ADA., 2018a) y es un serio problema del siglo XXI debido a las complicaciones secundarias asociadas (Singh *et al.*, 2011), es una de las enfermedades crónico degenerativas con mayor prevalencia a nivel mundial y representa un grave problema de salud pública (Jiménez-Flores *et al.*, 2014).

2.1.3.3.1. Diagnóstico de Diabetes Mellitus Tipo 2

Se realiza con la presencia clásica de hiperglucemia y prueba sanguínea anormal de tolerancia a la glucosa:

- Valor límite máximo de glucosa >126 mg/dl (7.0 mmol/L).
- Prueba de tolerancia oral a la glucosa: Glucosa \geq 200mg/dl o \geq 11.1 mmol/L dos horas después de realizar la prueba con 75g de glucosa vía oral.
- Hemoglobina glicosilada mayor a 6.5%.

(Prieto-Gómez *et al.*, 2017)

2.1.3.4. Otros tipos de Diabetes Mellitus

Son causados por endocrinopatías, defectos genéticos inducidos por la función de las células, exceso y deficiencia de hormona de crecimiento, exceso de catecolaminas, hiperaldosteronismo primario, hipertiroidismo (Sharma *et al.*, 2018), DM neonatal, DM de inicio en la madures MODY, enfermedades del páncreas exocrino (fibrosis quística y pancreatitis); DM inducida por fármacos o sustancias químicas como el uso de glucocorticoides en tratamiento de VIH\SIDA, y después de un trasplante de órganos (ADA, 2018a).

2.1.4. Complicaciones en Diabetes Mellitus

Dado que la DM altera el metabolismo por los cambios en los niveles de glucosa plasmática crónica (Prieto-Gómez *et al.*, 2017), se generan complicaciones a largo plazo en los diferentes aparatos y sistemas (Corrales, 2014), dichas complicaciones

son la mayor causa de morbilidad y mortalidad en pacientes con DM (Singh *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2018), estas complicaciones involucran:

- Cerebro: Accidentes cerebrovasculares.
- Ojos: Retinopatía que conduce a ceguera.
- Corazón: Lesiones y alteraciones.
- Riñones: Disfunción e insuficiencia renal, nefropatía.
- Vasos sanguíneos: Isquemia.
- Daño a nervios periféricos: neuropatías que generan el PD.

(Corrales, 2014; Prieto-Gómez *et al.*, 2017)

El daño a vasos sanguíneos y a nervios periféricos son causantes de úlceras en extremidades inferiores, característica del PD. Se estima que de las personas con DM y alguna complicación, 14% afecta a nefropatía diabética, 2-5% ceguera y un elevado riesgo de padecer una enfermedad isquémica cardíaca y enfermedad cerebro vascular; y 7%-10% PD de los cuales 30% terminará en amputación (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008).

2.1.4.1. Pie Diabético

PD es una complicación de DM, resulta de un estado h́iper glucémico prolongado e implica limitación para realizar actividades (Prieto-Gómez *et al.*, 2017). Su definición varía dependiendo el autor y del año (Véase Cuadro 4).

Cuadro 4. Definiciones de Pie Diabético reportadas en la literatura consultada

AUTOR	DEFINICIÓN
(IWGDF., 2007)	Ulceración, infección y/o gangrena del pie aliado a Neuropatía Diabética y distintos grados de enfermedad arterial periférica, es resultado de la interacción de factores metabólicos.
(Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008)	Infección, ulceración y destrucción de tejidos profundos aliado a anomalías neurológicas y vasculopatía periférica.
(Blanes <i>et al.</i> , 2012)	Infección, ulceración o destrucción de tejidos profundos relacionados con alteraciones neurológicas y distintos grados de enfermedad vascular periférica en extremidades inferiores, afecta DM que no ha sido tratada.
(NICE., 2015)	Lesión en piel o tejido subyacente, debajo del tobillo en DM.
(Prieto-Gómez <i>et al.</i> , 2017)	Ulceración del pie como secuela de traumatismo con infección por exposición de herida a agentes externos y de difícil cicatrización.
(ADA., 2018b)	Área anatómica debajo del maléolo en una persona con DM

(IWGDF., 2007; Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008, Blanes *et al.*, 2012, NICE., 2015, Prieto-Gómez *et al.*, 2017)

Hay dos aspectos a considerar en PD: Neuropatía e Isquemia (Mesa *et al.*, 2011).

2.1.4.1.1. Epidemiología del Pie Diabético

Al igual que en DM, para poder comprender la importancia del papel del comportamiento y morbilidad del PD, es necesario observar y analizar su transición demográfica y epidemiológica (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008) a través del tiempo.

Boulton (1997) menciona que las úlceras en el pie ocurren de un 5-10% de la población de DM, de estos, más del 3% sufrirán una amputación de un miembro inferior (Boulton., 1997); por su parte Merza y Tesfaye (2003) y Singh y Armstrong (2005) mencionan que las personas con DM tienen un 25% de riesgo mayor de desarrollar úlceras en los pies en algún momento de su vida (Merza y Tesfaye., 2003; Singh y Armstrong., 2005), dicha cifra es similar a la de Prieto-Gómez *et al* (2017) quienes mencionaron que de las personas con DM, entre el 20-25% padecerán en el futuro PD, y de ese porcentaje un 20% será sometido a una amputación total o parcial de pie (Prieto-Gómez *et al.*, 2017). Finalmente Alexiadou

y Doupis (2012) mencionan que de los casos de úlceras de PD, del 60-80% sanarán sin intervención o después del tratamiento, pero solo 10-15% permanecerán activos y 5-24% tendrán una amputación en algún miembro inferior (Alexiadou y Doupis., 2012).

En pacientes hospitalizados, la ulcera de PD es el precursor más común de amputación en DM (Oyibo., 2001). Li *et al* (2016) reportaron una prevalencia en pacientes hospitalizados del 4-10% (Li *et al.*, 2016), cifra menor a lo mencionado primero por Adler (1999), y posteriormente por Merza y Tesfaye (2003), quienes reportaron que las úlceras de PD representan el 85% de todas las amputaciones de miembros inferiores y 50% de ocupación de camas en pacientes con DM en el Reino Unido (Adler *et al.*, 1999; Merza y Tesfaye., 2003) y Baker (2001) reportó que en Estados Unidos (EU) hay más de 50 mil amputaciones anuales derivadas de una DM (Baker., 2001); finalmente en cuanto a mortalidad, las personas con PD tienen una mortalidad de 16.7% a los 12 meses y 50% a los 5 años, rango comparable con el cáncer de colon (Davis., *et al* 2018)

El PD es la segunda causa de amputaciones después de eventos traumáticos (Corrales., 2014) y más del 70% de los pacientes con complicaciones de DM sufren algún tipo de amputación en alguna extremidad inferior (Prieto-Gómez *et al.*, 2017), generando costos considerables; sobre esto, Lavery *et al* (2003) reportaron que se destinan del 20-40% de los recursos de atención a la salud al PD (Lavery *et al.*, 2003), mientras que el impacto a la economía nacional resultante de estos costos reportada en el 2017 por el Servicio Nacional del Reino Unido fue de 650 millones de euros (Meng *et al.*, 2017); además, las úlceras de PD se han identificado como componentes en más de dos terceras partes de amputaciones (Larsson y Apelqvist., 1995).

2.1.4.1.2. Pie Diabético en México

En cuanto a las cifras epidemiológicas de PD en México, ENSANUT reportó en el año 2012 un 2% de amputaciones en extremidades inferiores por causa de DM; cifra que incrementó en lo reportado por su homóloga del 2012 con un 5.5%; además, ese último año se reportó una incidencia de 41.2% de personas con DM que manifiestan pérdidas de sensibilidad, dolor o ardor en los pies. Así pues, la característica epidemiológica del PD es que las personas que lo padecen tienen mayor discapacidad, alta morbilidad y mayor mortalidad (Adler y Apelqvist., 1999).

2.1.4.1.3. Úlceras de Pie *Diabético*

Son los rasgos característicos del PD (Mesa *et al.*, 2011), y dado que la condición del PD reside en que el menor trauma puede causar úlceras, agregando problemas potenciales en los huesos y articulaciones en virtud de la Insuficiencia vascular periférica y Neuropatía, ocasionan que las extremidades inferiores son particularmente vulnerables a heridas, daños circulatorios y neurológicos (Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008). Las úlceras de PD son causa frecuente de discapacidad, morbilidad (Muñoz *et al.*, 2004), hospitalización, amputaciones en pacientes con DM (Lipsky, 2004) y mortalidad (ADA., 2018b); afecta de manera negativa la calidad de vida (Muñoz *et al.*, 2004) y los costos del tratamiento (Margolis y Jeffcoate., 2013; Michail *et al.*, 2013), los cuales aumentan dependiendo los factores relacionados con la gravedad de la herida (Apelqvist *et al.*, 2017).

Por todo lo anterior, es que el PD es la complicación de DM que más costos implica (Prieto-Gómez *et al.*, 2017).

2.1.4.1.4. Factores de riesgo de Pie Diabético

Se incluyen los relacionados con la aparición de úlceras y los relacionados con la amputación del pie:

Factores modificables:

- Descontrol metabólico.

- Factores sociales.
- Deformidades anatómicas.
- Aumento de presión plantar.
- Calzado inadecuado.
- Sobrepeso corporal u obesidad.
- Alcoholismo.
- Tabaquismo.
- Ingestión de betabloqueantes.

Factores no modificables:

- Edad: Frecuente en mayores de 45 años, mayormente cuando hay mucho tiempo de evolución de DM.
- Sexo: Más frecuente en hombres, esto puede relacionarse a riesgos ocupacionales, en donde la fuerza y el roce ejercen presión para provocar una lesión.
- Tiempo de evolución de DM.
- Etnia.
- Resequedad de piel.
- Neuropatía: Condiciona la disminución en la sensibilidad, evitando que se noten roces o malestar en los pies.
- Isquemia: Perfusión sanguínea disminuida considerablemente. Esto es debido a que en niveles de hiperglucemia constante el metabolismo de lípidos permanece alterado; con esto se forman placas de ateromas que reducen la luz de los vasos. Este efecto, agregando una lesión propia del endotelio, el incremento en la viscosidad sanguínea, el incremento en la agregación plaquetaria y el aumento de algunos de los factores de coagulación, llevan a dicha disminución en perfusión sanguínea.
- Antecedentes de retinopatía (puede ser modificable en estadios iniciales).

- Antecedentes de úlceras y/o amputaciones (puede ser modificable en estadios iniciales).

Factores que no dependen de la situación patológica (pueden ser modificables):

- Traumatismos: Son el principal factor de riesgo.
 - Traumatismos mecánicos: cortaduras, objetos punzo cortantes y lesiones por deformidades.
 - Traumatismos mecánicos: quemaduras con agua caliente o caminar en suelo caliente.
 - Peligros laborales: trabajos en agricultura, ganadería y zonas con climas de temperatura elevada.
- Hábitos tóxicos: alcoholismo y tabaquismo.
- Falta de prevención, información, educación y nivel socioeconómico bajo, originando el abandono del tratamiento y agravando así la enfermedad.
- Mala higiene en los pies: Si no hay limpieza, la piel se lesiona y se favorece la infección; también se favorece si el control glucémico no es correcto. (García y Dudduty., 2001; Merza y Tesfaye., 2003; Álvarez., 2005; Muñoz *et al.*, 2014; Prieto-Gomez *et al.*, 2017; ADA., 2018b)

2.1.4.1.5. Lesión en Pie Diabético

Las áreas más comunes de ulceración son las zonas en que se ejerce presión, como lo son el talón y zona con hallux valgus (Prieto-Gómez *et al.*, 2017); y el orden de los sucesos de la ulcera de PD son:

- Neuropatía diabética: Es el factor indicador más fuerte para ulcera de PD; se ha reportado y demostrado que 63% de las úlceras de PD se deben a la neuropatía sensitiva periférica (Reiber *et al.*, 1999).
- Enfermedad vascular periférica: aunque no se sugiere como causa de ulceración sola, generalmente se encuentra en combinación con la neuropatía diabética (Boulton., 1996).

Aunque las úlceras del PD y las amputaciones son consecuencias comunes de la neuropatía diabética y de la enfermedad arterial periférica (ADA., 2018b), la mayoría inicia con neuropatía (Muñoz *et al.*, 2004; Arboleya-Casanova y Morales-Andrade., 2008), y si se aumentan las parestesias y se disminuye la sensación del dolor, los traumatismos subsecuentes y repetidos pueden ocasionar degeneración articular y resultar en nuevos apoyos del pie que reciclan el problema de úlcera (NOM-015-SSA2-1994; Brennan., 2000; World Health Organization., 2004). Sin embargo, a pesar de que la neuropatía diabética es la complicación más frecuente y precoz de la DM, suele ser la más tardíamente diagnosticada (Muñoz *et al.*, 2004).

2.1.4.1.5.1. Isquemia

En DM afecta vasos sanguíneos pequeños y grandes. En EU 20% de las personas con DM se hospitalizan por las complicaciones de PD, de los cuales una tercera parte presenta enfermedad vascular periférica y 7% requiere amputación o cirugía vascular. Progresa más rápido en presencia de DM y tiene una distribución peri tibial característica, por lo que el PD se hace más vulnerable a las heridas (López y López., 1998).

Los signos y síntomas de la insuficiencia vascular periférica en PD son:

- Claudicación intermitente.
- Pie frío.
- Dolor en reposo.
- Pulsos ausentes.
- Palidez a la elevación.
- Retardo en el vaciamiento venoso al elevar la extremidad.
- Rubor al colgar la pierna.
- Atrofia de grasa subcutánea.
- Piel adelgazada.
- Pérdida de pelos del pie y pierna.

- Uñas quebradizas.
- Gangrena y necrosis en metatarso.
- Posible oclusión progresiva o aguda por trombosis, produciendo dolor, edema cerúleo, parestesia, calambres, parálisis con debilidad súbita y enfriamiento del pie.
- Piel seca por disminución de sudoración.
- Piel frágil que produce grietas y cuarteaduras con alto riesgo de infección.

Con las características mencionadas, la isquemia puede conducir a una coalescencia de herida, es decir, heridas separadas que se hacen una sola (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012).

2.1.4.1.5.2. Neuropatía

El sistema nervioso parasimpático se encarga de controlar los actos y las funciones. Este sistema es afectado por la Neuropatía Diabética (ND) (Prieto-Gómez *et al.*, 2017).

La ND es un grupo heterogéneo de desórdenes con diversas manifestaciones clínicas (ADA., 2018b) y complicación común de la DM (Oyibo *et al.*, 2001) de gran morbilidad (Muñoz *et al.*, 2014); afecta al 30% de la población con DM influyendo en la aparición y establecimiento del PD (Oyibo. *et al.*, 2001). Se define como la presencia de síntomas o signos de disfunción de los nervios periféricos en personas con DM tras la exclusión de otras causas y afecta todos los tipos de fibras nerviosas como lo son las motoras, sensitivas y autonómicas (González, 2010).

A pesar de que la evolución y la gravedad del PD se relacionan con la duración y mal control de la DM (Muñoz *et al.*, 2014), su diagnóstico temprano es bajo, ya que más del 50% de las ND periféricas son asintomáticas (ADA., 2018b) y suele ser tardíamente diagnosticada por la ausencia de criterios de diagnóstico unificados, por la multiplicidad de métodos de diagnóstico, por la heterogeneidad de formas

clínicas (Muñoz *et al.*, 2014) y también debido a que para establecer ND se han tenido que pasar por lo menos 10 años desde que se debutó con DM (Prieto-Gómez *et al.*, 2017).

El proceso de la ND en PD tiene que ver con una elevación de glucosa en sangre por periodos prolongados, esta elevación de glucosa forma sorbitol que se acumula en el nodo de Ranvier disminuyendo así la conducción nerviosa (Prieto-Gómez *et al.*, 2017) y la sensibilidad neuronal, la cual es un factor clave en el desarrollo de esta patología, ya que al perder la percepción de estímulos en el miembro y haber lesión, no se sentirá (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012; Prieto-Gómez *et al.*, 2017) y se desarrolla un edema que tendrá un rol importante en el desarrollo de úlceras de difícil cicatrización (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012).

En la fisiopatología del PD, después de la ND, participan las angiopatías, que pueden ser:

- Macro angiopatías: Son de grandes y medianos vasos, resultan de trastornos metabólicos que acompañan a la persona con DM, se caracterizan por:
 - Elevación de niveles de triglicéridos.
 - Establecimiento de aterosclerosis.
 - Impide aporte de oxígeno a las extremidades inferiores.
- Micro angiopatías: El mecanismo de principal relevancia para que se presente es la hiperglucemia constante. Afecta principalmente las arterias de miembros inferiores y disminuye el aporte sanguíneo hacia la extremidad inferior distal.

(Prieto-Gómez *et al.*, 2017)

2.1.4.1.6. Evaluaciones sensoriales en Pie Diabético

Para realizar una evaluación efectiva con el fin de prevenir ulceraciones y amputaciones se requiere de herramientas (Diabetes Control and Complication Trial

Research Group., 2000), y de acuerdo con la ADA, debe ser mediante el seguimiento de:

- a) Manifestaciones clínicas.
- b) Examinación clínica.
- c) Estudios de diagnóstico eléctrico.
- d) Evaluación sensorial.
- e) Pruebas de rendimiento autonómico.

(Shahbazian *et al.*, 2012)

Sin embargo, (A) y (B) presentan la dificultad de ser difíciles y caras (Shahbazian *et al.*, 2012), y para esto existen actualmente pruebas validadas que deben realizarse para detectar cambios neurológicos con el fin de identificar el riesgo de heridas futuras (Lucoveis *et al.*, 2018). No obstante, la evaluación no se dirige tanto a diagnosticar estadios de ND, sino a identificar presencia de pérdida de sensibilidad protectora (González, 2010).

Son cinco las pruebas que han demostrado su utilidad para diagnosticar la pérdida de sensibilidad protectora:

- Discriminación con un alfiler (palillo)
- Umbral de sensibilidad vibratoria determinado con neurotensiómetro
- Valoración del reflejo Aquileo
- Diapasón de 128 Hz
- Monofilamento de Seemes-Weinstein de 7.5/10 g

(González., 2010)

De las herramientas mencionadas, las que más destacan en la literatura por sus ventajas de practicidad, utilidad, económicas, no doloras y no invasivas para los sujetos a evaluar son las últimas tres (reflejo Aquileo, diapasón de 128 Hz y monofilamento de Seemes-Weinstein de 7.5/10 g) (Boulton *et al.*, 2008; Bortoletto *et al.*, 2009).

2.1.4.1.6.1. Evaluación de reflejo Aquileo

El tendón de Aquiles tiene la característica de ser muy voluminoso y resistente, ya que soporta grandes tensiones. Anatómicamente desciende verticalmente estrechándose por detrás de los músculos de la cavidad profunda de la pierna y del tobillo, tiene una extensión mínima de aproximadamente 15 mm y a continuación se ensancha para alcanzar su entesis sobre la mitad inferior de la cara posterior del calcáneo (Denis *et al.*, 2004).

La exploración de reflejo Aquileo (ReAq) se realiza para determinar la integridad de la raíz nerviosa (Palmer y Elper, 2002) de las raíces S1, S2 y del nervio periférico ciático. La exploración consiste en la percusión de este tendón, obteniendo como respuesta normal una flexión plantar (Robres *et al.*, 2011).

Procedimiento de exploración:

Para mejorar los resultados de la prueba se recomienda que el sujeto a evaluar colabore y esté alerta, que se le explique previamente el procedimiento y que se le haga antes en la mano o brazo, además de mantener el pie oculto de la visión del sujeto a evaluar (González, 2010). Se coloca al sujeto a evaluar en posición prona (acostado boca abajo), supina (acostado boca arriba) o sentado (Palmer y Elper., 2002), se localiza el tendón de Aquiles en el punto de encuentro de los tendones del musculo sóleo (soleus) y de los gemelos (gastrocne mius) (Denis *et al.*, 2004).

Una vez localizado, se realiza una percusión con un martillo neurológico: La respuesta positiva a dicha percusión del tobillo es la flexión plantar (Palmer y Elper, 2002); mientras que de no haber respuesta, recibe el nombre de arreflexia de tendón, esto constituye una importante alteración musculo esquelética y aumenta el riesgo de las úlceras en personas con DM (Lucoveis *et al.*, 2018).

2.1.4.1.6.2. Evaluación con diapasón 128 Hz

Inventado en 1711 por el músico John Shore, y 100 años después de su invención para el área de la música, se empezó a usar en el campo de la medicina (García-

Palmer, 1988). Es comúnmente elaborado de acero, y al ser golpeado en alguna de sus ramas mientras se sostiene por el mango produce una vibración prolongada que se mantiene y varía dependiendo de la frecuencia bajo la que esté fabricado, por lo que la vibración siempre será la misma (García-Palmer, 2015).

El diapasón de 128 Hz (D-128Hz) tiene una sensibilidad del 80% y una especificidad del 60% (Chadwick *et al.*, 2013), y junto con el monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g, es la herramienta de mayor utilidad hoy en día para el cribado de la ND (Cuevas *et al.*, 2018).

Para mejorar los resultados de la prueba se recomienda que el sujeto a evaluar colabore y esté alerta, que se le explique previamente el procedimiento y que se le haga antes en la mano o brazo, además de mantener el pie oculto de la visión del paciente (González., 2010). Se le realiza la percusión al diapasón con un golpe ligero y se coloca sobre el primer dedo del pie o sobre el relieve óseo de la cabeza del primer metatarsiano del sujeto a evaluar (Chadwick *et al.*, 2013). La evaluación consiste en si el sujeto siente o no la vibración (Damas *et al.*, 2017) y dar respuesta al evaluador.

2.1.4.1.6.3. Evaluación con monofilamento de Semmes-Weinstein 7.5/10 g

Los monofilamentos son otra manera de llamar a los estesiómetros (del griego *aísthesis*: sensación/sensibilidad; y del griego *metrón*: medida) (Cáceres., 2012). Están fabricados con determinadas especificaciones de longitud, grosor y material (González., 2010).

A finales del siglo XIX Maximilian Ruppert Franz Frey usó crines de caballo de diferentes longitudes y grosores como material de experimentación. Observó que la presión ejercida por el crin sobre una superficie al curvarse era siempre la misma independientemente de la fuerza o presión ejercida por el explorador. Posteriormente en 1950 Josephine Semmes y Sidney Weinstein usaron nylon para la elaboración de un juego de 20 monofilamentos de diámetros diferentes y de

longitud constante basándose en las propiedades descubiertas por Franz Frey. La ventaja del nylon era que su síntesis aportaba material en cantidades ilimitadas y de características homogéneas, capacidad de absorción de humedad menor y que se podía disponer de monofilamentos que soportaban mayor presión sin curvarse (1 a 300g), ya que la generada por las crines de caballo era inferior a 1 g (González., 2010).

Birke y Sims fueron los primeros en establecer el límite para el monofilamento de 10g en 1985 (Birke y Sims., 1986) al usar monofilamentos de medidas de 4.07, 5.07 y 6.28 para detectar la sensación de 72 pacientes con lepra y 28 pacientes con DM (Olmos *et al.*, 1995). Y aunque las tres medidas de son igualmente efectivas para el cribado de ND (Zhang *et al.*, 2018), el umbral más bajo de sensación de presión en pacientes sin historia, ni presencia de úlcera correspondió al de 5.07 (10g); dado esto, los autores concluyeron que el monofilamento de Semmes—Weinstein de 7.5/10g (MSW-7.5/10 g) de esta medida es el mejor indicador de alteración de la sensación protectora (Saltzman *et al.*, 2004), la que mejor se correlaciona con la presencia de ulceraciones, el riesgo de desarrollarlas (González., 2010) y es suficiente para la exploración de la ND sensitiva (Mueller., 1996; Saltzman *et al.*, 2004); dando origen al actual monofilamento de Semmes-Weinstein, el cual es una fibra de nylon unida a un mango (Mayfield y Sugarman., 2000; Cáceres., 2012), esta fibra está calibrada de forma que al presionarla sobre la piel corresponda a una fuerza constante. De esta manera, las pequeñas vibraciones, fluctuaciones de la intensidad de aplicación o movimientos propios de la mano del examinador no influyen sobre la cantidad de fuerza ejercida (Mueller., 1996; Mayfield y Sugarman., 2000).

Se han reportado diferentes niveles de sensibilidad: de 77% (Perkins *et al.*, 2001); de 66-91% (Mayfield y Sugarman., 2000); así como diferentes reportes de especificidad, como de 96% (Perkins *et al.*, 2001), y 23-86% (Mayfield y Sugarman., 2000). El valor predictivo positivo de la prueba es de 34-86%; y un valor predictivo negativo de 94-95% (Mayfield y Sugarman., 2000).

El Grupo de Trabajo de Cuidados de los Pies de la ADA aconseja realizar dos pruebas, de las cuales una debe ser el MSW-7.5/10 g; el Centro de Servicios de Medicare y Medicaid, la FID y la OMS recomiendan que las pruebas en los pies se realicen con MSW-7.5/10g (WHO., 2006; Feng *et al.*, 2009); y el Consenso Internacional sobre el PD y el grupo del Hospital Clínico San Carlos recomienda el MSW-7.5/10g como prueba de elección dada su sencillez, bajo costo y rapidez (González., 2010).

La razón fundamental de la prueba de MSW 7.5/10 g es medir la capacidad del sujeto a sentir un punto de presión (Lee *et al.*, 2003). La evaluación es una prueba no invasiva, de bajo costo, rápida, fácil, simple de aplicar que se usa en la práctica clínica y en las rutinas de autoevaluación (Feng *et al.*, 2009), además es apropiada y simple (Shahbazian., 2012) reproducible y efectiva (Cáceres, 2012) como método de cribado para la identificación de ND y predecir la probabilidad de desarrollar úlceras en el pie de las personas con DM (Shahbazian., 2012), incluso es considerado el estándar de oro para la identificación temprana de un pie con riesgo de amputación (Lucoveis *et al.*, 2018).

Procedimiento de la prueba:

Para mejorar los resultados de la prueba se recomienda que el sujeto a evaluar colabore y esté alerta, que se le explique previamente el procedimiento y que se le haga antes en la mano o brazo; además de mantener el pie oculto de la visión del paciente (González., 2010).

Se aplica al sitio de prueba ejerciendo presión hasta que se doble el nylon alrededor de un segundo, se le da la instrucción al sujeto a evaluar de que conteste “Sí” o “No” cada vez que sienta (Feng *et al.*, 2009). Si el sujeto no siente después de que el monofilamento se dobla, el sitio donde se hace el test se considera insensible (Mayfield y Sugarman., 2000; Feng *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2018;) y como factor predictor independiente de riesgo elevado de úlcera de pie (McNeely *et al.*, 1995;

Feng *et al.*, 2009). Por el contrario, si el test es normal, no se puede descartar del todo la ND (González., 2010).

Mientras el uso de MSW-5.07/10 g se expande y es generalmente aceptado, aún no hay un método estándar para su aplicación (Feng *et al.*, 2009; González., 2010), ni un estándar universal con instrucciones de cómo y dónde usar los monofilamentos o interpretar sus resultados (Shahbazian., 2012).

Los sitios de prueba de MSW-7.5/10 g varían ampliamente en número y localización; y aunque Feng *et al* (2009) recomiendan de 1 a 10 (Feng *et al.*, 2009), el número de la cantidad de sitios de aplicación de estudio varían en diferentes estudios (Lee *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2018). Poner a prueba más puntos permiten al monofilamento ser más sensible en la identificación de pacientes con ND (Lee *et al.*, 2003); contrario a evaluar un solo punto, donde no es tan efectivo el diagnóstico de ND (Feng *et al.*, 2009).

Tras su empleo repetido, el MSW-7.5/10g pierde parcialmente sus características de constancia en la fuerza aplicada al curvarse, por lo que se recomienda que tras 10 pacientes explorados se deje un período de reposo de 24 Hrs (Mayfield y Sugarman., 2000; González., 2010).

A pesar de contar con recomendaciones en varias guías prácticas clínicas, existe poca evidencia respecto a la eficacia de MSW-7.5/10g para detectar por sí sola (como única herramienta) la ND en pies sin úlceras visibles, por lo que no se recomienda el uso único de la prueba de monofilamento para evaluar ND (González., 2010; Cáceres, 2012).

2.1.4.1.7. Herramientas de clasificación y pronóstico de Pie Diabético

Los sistemas de clasificación de heridas se usan para intentar abarcar las diferentes características de una úlcera, como lo son: sitio, profundidad, presencia de ND, presencia de isquemia (Oyibo *et al.*, 2001) y presencia de infección (Jeffcoate., 1993). La clasificación de la herida debe realizarse desde la evaluación inicial de la herida (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012). Un sistema de clasificación para PD provee

una descripción uniforme de la úlcera y ayuda en la planeación de estrategias de tratamientos correctivos y preventivos en términos de curación y amputación de miembros inferiores (Jeffcoate., 1993); sin embargo, pocos sistemas de clasificación han sido señalados para valorar el puntaje de gravedad de las úlceras (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012).

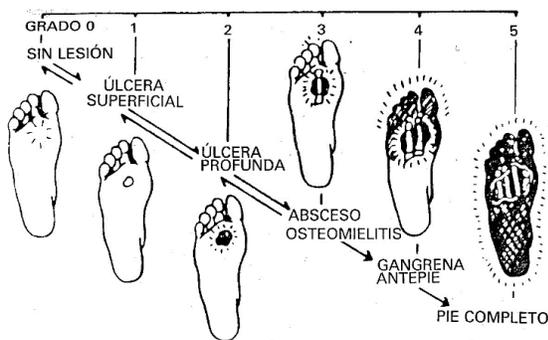
La mayoría de los sistemas de clasificación han fallado en incluir todas las variables que pueden afectar positiva o negativamente la cronobiología de la cicatrización, esta limitante ocasiona que se generen diversas clasificaciones de PD para determinar el impacto de algunas variables en amputaciones (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012) y el seguimiento de los cambios que surgen durante el proceso de la lesión (Edmonds., 2007). Los sistemas de clasificación y de pronóstico de PD más conocidos y usados son:

- Sistemas de clasificación de heridas:
 - Sistema de clasificación de heridas de Wagner-Meggitt.
 - Sistema de clasificación de heridas diabéticas de la Universidad de Texas.
 - Sistema de pronóstico de heridas:
 - Clasificación de San Elián.
- (Oyibo *et al.*, 2001)

2.1.4.1.7.1. Sistema de clasificación de heridas de Wagner-Megitt

Es la herramienta más usada para clasificar heridas en PD (Castillo *et al.*, 2014). Este sistema evalúa la profundidad de la herida y presencia de osteomielitis, y gangrena. Clasifica la herida en 6 grados (Véase Figura 1):

- Grado 0: Lesión pre o post ulcerativa.
 - Grado 1: Úlcera total o parcial.
 - Grado 2: Herida que penetra el tendón o capsula.
 - Grado 3: Herida profunda con osteólisis.
 - Grado 4: Gangrena parcial del pie.
 - Grado 5: Gangrena total del pie.
- (Wagner, 1981)



(Wagner., 1981)

Figura 1. Clasificación de heridas de Pie Diabético de Wagner-Meggitt.

Sin embargo, a pesar de ser la herramienta más conocida para clasificar heridas en PD, implica algunas desventajas: no aborda adecuadamente todas las úlceras e infecciones, en las primeras escalas (0–3) evalúa únicamente profundidad de la lesión en tejidos y partes blandas; la escala 4 evalúa principalmente la gangrena parcial del pie y la escala 5 abarca un pie completamente gangrenoso; y estas dos últimas escalas (4 y 5) condicionan quirúrgicamente a porción gangrenada, es decir, valoran la porción de extremidad inferior a amputar; además no incluye pruebas de sensibilidad (Castillo *et al.*, 2014).

2.1.4.1.7.2. Sistema de clasificación de heridas diabéticas de la Universidad de Texas

Esta herramienta evalúa en los grados 0, I, II y III; que a su vez están divididos en los diferentes estadios A, B, C y D (Véase Figura 2).

CLASIFICACIÓN DE LESIONES DE PIE DIABÉTICO DE LA UNIVERSIDAD DE TEXAS				
ESTADIO	GRADO			
	0	I	II	III
A	Lesiones pre o post ulcerosas completamente epitelizadas	Herida superficial, no afecta a tendón, cápsula o hueso	Herida que afecta a tendón o cápsula	Herida penetrante que afecta a hueso o articulación
B	Infectada	Infectada	Infectada	Infectada
C	Isquémica	Isquémica	Isquémica	Isquémica
D	Infectada e isquémica	Infectada e isquémica	Infectada e isquémica	Infectada e isquémica

(Lavery *et al.*, 1996)

Figura 2. Clasificación de lesiones de Pie Diabético de la Universidad de Texas

Descripción de grados:

- Grado 0: Sitio pre o post ulcerativo que ha sanado.
- Grado I: Herida superficial que no involucra tendón, cápsula o hueso.
- Grado II: Herida que penetra tendón o capsula.
- Grado III: Herida penetrante al hueso o articulaciones.

Estas clasificaciones permiten separar la isquemia de la profundidad de herida (Castillo *et al.*, 2014) para valorar:

- Estadio A: Heridas limpias.
- Estadio B: Herida no isquémica infectada.
- Estadio C: Herida isquémica no infectada.
- Estadio D: Herida isquémica infectada.

(Lavery *et al.*, 1996)

La separación de las características de herida, así como el aumento de categorías (más que la clasificación de Wagner), implica mayor poder predictivo; sin embargo no incluye úlceras ni sensibilidad (Castillo *et al.*, 2014).

2.1.4.1.7.3. Clasificación de San Elián

Es una herramienta validada para el pronóstico de heridas en PD, permite predecir la progresión de la herida durante su evolución e identificar la terapéutica correcta de acuerdo con su gravedad; esto a través de una serie de evaluaciones en la herida, las cuales resultan útiles para su seguimiento permitiendo toma de decisiones como ajustes en el tratamiento para la evolución de las heridas (Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012), identificar la terapéutica correcta de acuerdo a gravedad y recalificar evolución de las lesiones (Castillo *et al.*, 2014) (Véase Figura 3).

Paciente:			
Fecha			
Procedimiento terapéutico**			
Factores: leve (1), moderado (2) y grave (3)			
Localización inicial (1-3)			
Aspectos afectados (1-3)			
Número de zonas afectadas (1-3)			
Isquemia (0-3)			
Infección (0-3)			
Edema (0-3)			
Neuropatía (0-3)			
Área (1-3)			
Profundidad (1-3)			
Fase de cicatrización (1-3)			
Puntaje			
Diferencia			
Grado			
Médico: nombre y firma			
Hospital o clínica			

Figura 3. Clasificación de San Elián para heridas de Pie Diabético.

**Intervención quirúrgica (desbridación, amputación menor o mayor, revascularización, etcpetera) y/o procedimientos adyuvantes (VAC, piel sintética, injertos, cámara hipervárica, etcétera. Modificada de Martínez-De-Jesús (2012) con fines ilustrativos.

Esta clasificación consta de las 10 variables propias de una lesión:

- Localización primaria.
- Aspectos topográficos.
- Numero de zonas afectadas.
- Isquemia.
- Infección.
- Edema.
- Neuropatía.
- Profundidad.
- Área.
- Fase de cicatrización de la lesión.

(Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012)

A estas variables se agrega un valor (1-3) dependiendo de la categoría:

- Leve (I).
- Moderado (II).
- Grave (III).

Estas categorías corresponden a la siguiente descripción:

- Grado I (leve): Buen pronóstico para una cicatrización exitosa.
- Grado II (moderado): Amenaza parcial, los resultados son dependientes de una terapéutica adecuada aplicada y asociada a la respuesta biológica del paciente.
- Grado III (grave): Amenaza para la extremidad afectada y la vida.
(Martínez-De-Jesús *et al.*, 2012)

Ya que son 10 variables, el puntaje máximo es de 30 puntos, y es de ese puntaje el grado que corresponde a la lesión:

- 10 o menos puntos: Grado I
- 11 a 20 puntos: Grado II
- 21 a 30 puntos: Grado III
(Martínez-De Jesús., 2010; 2012)

Esta herramienta de pronóstico no cuenta con pruebas específicas de sensibilidad.

Sin embargo, a pesar de las herramientas de clasificación y de diagnóstico mencionadas, no hay reportada alguna herramienta de prevención para el PD, por lo que la propuesta de esta investigación, es hacer uso de las ciencias ómicas, con un enfoque específico en la metabolómica para generar un panel de biomarcadores preventivos.

2.2. Ciencias ómicas

“Ómica” viene del latín “*oma*”, que significa “conjunto de”. Las ciencias ómicas aportan avances en el conocimiento de temas biológicos (Bernal M, 2015). Las principales ciencias ómicas desarrolladas son:

- Ciencias de lo que hace que ocurra:
 - Genómica.
 - Transcriptómica.

- Ciencias de lo que a veces no deja que ocurra:
 - Proteómica.
 - Epigenética.
 - Ciencias de lo que ha ocurrido y está ocurriendo:
 - Metabolómica.
- (Bernal., 2015)

Las ciencias ómicas abordan interacciones complejas de los sistemas biológicos desde un punto de vista holístico entre las partículas que tienen interacciones que afectan la fisiopatología de alguna enfermedad (Barallobre-Barreiro., 2013).

Al usar la genómica, transcriptómica y proteómica se pueden buscar biomarcadores de diagnóstico y pronóstico de enfermedades; y con epigenética, metagenómica y metabolómica se buscan las dianas terapéuticas con las que se puedan desarrollar fármacos (Bernal., 2015); esto es posible gracias a que se puede rastrear un genoma completo para localizar una secuencia de partículas, integrándolas con programas que predicen la función de lo identificado y sus interacciones (Lee., 2001), ya que el comprender la relación entre los procesos biológicos mensurables y los resultados clínicos es vital para expandir los tratamientos para las enfermedades y profundizar nuestra comprensión de la fisiología en enfermedad y salud (Strimbu y Tavel., 2010).

El análisis en las técnicas ómicas se hace con ayuda de la bioinformática (Barallobre *et al.*, 2013), esto es porque anteriormente los enfoques trataban las cascadas de señalización intracelulares con modelos lineales y se consideraba que las moléculas involucradas estaban confinadas a una sola vía de señalización; sin embargo, ahora se sabe que las diferentes vías interactúan entre sí y están organizadas en forma de redes (Barabási, 2009); por lo que la bioinformática es un instrumento esencial para analizar y visualizar de manera completa dichas interacciones de procesos biológicos y alteraciones producidas en la (Barallobre-Barreiro *et al.*, 2013).

2.2.1. Clasificación de ciencias ómicas

2.2.1.1. Genómica

Se encarga del estudio del conjunto de genes (genoma) en un organismo. Intenta comprender el contenido, organización, función y evolución de la información en moléculas de ADN que están contenidas en el genoma completo (Vivanco *et al.*, 2003). Se divide en:

- Genómica de estructura: Caracteriza y localiza secuencias que conforman el ADN para obtener mapas genéticos de organismos.
- Genómica funcional: Usa técnicas de análisis masivo para estudiar genes, proteínas y metabolitos. Llena el hueco existente entre el conocimiento de secuencias de un gen y su función para así desvelar el entendimiento de los sistemas biológicos, ya que no todos los genes se expresan en todas las células.

(Vivanco *et al.*, 2003)

La genómica ramifica en otras aproximaciones ómicas como:

- Orfeómica: Estudio de información de marcos abiertos de lectura de unidades de transcripción.
- Prometorómica: Estudio de promotores.
- Metilómica: Estudio modificaciones epigenéticas.
- Haplómica: Estudio de casos especiales de gametos.
- Mitocrondríómica y cloroplastosómica: Estudio de organelos con ADN propio como mitocondrias y cloroplastos.
- Fenotipómica: Estudio de las diferentes manifestaciones en el genotipo.
- Epigenómica: Estudio de los factores genéticos capaces de alterar la expresión de genes sin cambiar la secuencia del ADN.

(Bernal., 2015).

2.2.1.2. Metagenómica

Estudia genomas de comunidades enteras de microbios sin necesidad de aislarlos previamente (Bernal., 2015).

2.2.1.3. Epigenética

Identifica secuencias del genoma. Incluye marcas de metilación en el ADN (metilación de citosinas) y modificación de ciertos residuos de aminoácidos de las histonas. Se aplica en el estudio de las modificaciones que experimenta la cromatina (complejo con proteínas, entre las que sobresalen las histonas del ADN), esto es porque la cubierta y organización de la cromatina se relaciona en gran medida con la expresión de la información contenida en los genes y modificaciones que sufren las histonas (Bernal., 2015).

2.2.1.4. Transcriptómica

Consiste en el análisis de miles de moléculas de ARN de todo tipo, es el paso previo a la proteómica. Se encarga del estudio del conjunto de ARNr, ARNt, ARNm, ARNi y miARN. Los transcriptomas son muy variables, ya que muestran qué genes se están expresando en un momento dado (Bernal., 2015).

2.2.1.5. Proteómica

El término “proteómica” fue acuñado entre 1994 y 1997 por Marc Wilkins como una analogía de “genómica” (estudio de genes); así que es la fusión de “proteínas” y “genoma” (Bernal., 2015). Su objetivo es interrogar al proteoma (Anderson y Anderson., 1998).

Es el estudio a gran escala de la estructura, función y modificaciones postraduccionales (cambios proteicos después de su constitución que afectan la función y forma de la proteína) (Bernal., 2015) de las proteínas que se pueden expresar en un genoma (proteoma) (Vivanco *et al.*, 2003); abarca el análisis de

dichas proteínas en una condición específica y tiene un gran potencial para su identificación y asociación a diferentes enfermedades y complicaciones (Wilkins., 1996).

En condiciones concretas refleja a nivel molecular la situación normal o patológica de la célula, esto debido a que las proteínas realizan la mayoría de las funciones celulares (Vivanco *et al.*, 2003), son partes vitales de organismos y son componentes principales de las rutas metabólicas de cada célula. La diferencia entre proteoma y genoma es la diversidad, puesto que el genoma es invariable y el proteoma difiere de una célula a otra; cambia según las interacciones bioquímicas con el genoma y el ambiente y de un momento a otro (Bernal., 2015).

2.2.1.6. Metabolómica

Creció con la proteómica y la genómica como resultado del proyecto del genoma humano. Está relacionada con el metabolismo y sus cambios, ya que éstos pueden explicar enfermedades genéticas, ambientales y trastornos de exposiciones ambientales, así pues, el estudio de metabolitos puede ayudar a diagnosticar enfermedades o estudiar los efectos de una sustancia o intoxicación (Bernal., 2015).

El objetivo de la metabolómica es caracterizar el complemento de moléculas pequeñas de una muestra determinada e interrogar a las redes metabolómicas en condiciones normales y patológicas de manera cuantitativa y cualitativa (Barallobre-Barreiro., 2013). Se encarga de estudiar, catalogar y cuantificar metabolitos de bajo peso molecular que se encuentran en sistemas biológicos (Bernal., 2015), ya sean de saliva o plasma sanguíneo (Gupta *et al.*, 2012). Esto es porque los metabolitos reflejan la adaptación de los sistemas biológicos y los estados patológicos (Barallobre-Barreiro., 2013).

Dado que los humanos tenemos diferentes tipos de células con metabolomas diferentes, el conocimiento de esas variables metabólicas debería servir para predecir la reacción a la administración de los medicamentos o alimentos de una

manera particular eligiendo el activo y dosis; por lo que la metabolómica puede ser útil para el desarrollo de medicina personalizada (Bernal., 2015) y puede contribuir a:

- Diagnosticar enfermedades.
- Controlar diversos tratamientos de salud.
- Detección de factores de riesgo en poblaciones.

(Yanes., 2010; Patti., 2012; Bernal., 2015)

Los enfoques complementarios para las investigaciones metabolómicas son:

- Diseño de perfiles metabolómicos de rastreo digital.
- Generación de perfiles metabolómicos: los métodos de análisis se utilizan para medir los metabolitos de una clase determinada.
- Huella metabólica: Lo encontrado se compara para determinar si los metabolitos han cambiado por enfermedad o exposición a toxinas.

(Bernal., 2015)

2.3. Biomarcadores

Se refiere a una amplia categoría de signos médicos. La palabra “biomarcador” es un acrónimo de “marcador biológico”. Son indicadores objetivos del estado médico observado que puede medirse de forma precisa y reproducible. Desempeñan un papel fundamental en la mejora del proceso de fármacos y han sido aprobados por la FDA de EU para su uso (Strimbu y Tavel., 2010).

Las diferentes definiciones de “biomarcador” se superponen una de otra y varían entre autor y autor a lo largo del tiempo (Strimbu y Tavel., 2010)

- 2010 - Características objetivas y cuantificables de los procesos biológicos (WGBD., 2010).

- 2015 - Cualquier sustancia, estructura o proceso que puede medirse en el cuerpo o sus productos e influir o predecir la incidencia del resultado o la enfermedad (WHO., 2004).

Sobre lo anterior, Strimbu y Tavel (2010) mencionan que una definición debe tener en cuenta no solo la incidencia y el resultado de la enfermedad, sino también efectos de tratamientos, intervenciones e incluso exposición ambiental involuntaria como a sustancias químicas o nutrimentos (Strimbu y Tavel., 2010).

Algunos ejemplos de biomarcadores son: pulso, presión arterial, pruebas químicas básicas y pruebas de laboratorio más complejas de sangre u otros tejidos. Aunque su uso se acepta casi sin discusión al volverse tan comunes de usar (Strimbu y Tavel., 2010), existe la necesidad de identificar nuevos biomarcadores para estratificar a los pacientes y personalizar sus tratamientos (Barallobre-Barreiro., 2013).

Actualmente existen biomarcadores relacionados con cáncer y ya son de uso clínico:

- Relacionado con cáncer de mama: Antígeno CA15-3.
- Relacionados con cáncer de próstata: A-fetoproteína L3, carboxiprotrombina y antígeno prostático PSA.

Cuando un biomarcador ha sido bien caracterizado y ha mostrado que predice correctamente los resultados clínicos relevantes a través de una variedad de tratamientos y poblaciones, recibe el nombre de “biomarcador específico”; sin embargo a pesar de que se le asuma una validez de biomarcador, debe seguirse evaluando constantemente (Strimbu y Tavel., 2010); por otro lado, el término “validez” es cambiado por “evaluación”, en donde se hace un proceso continuo del estudio del biomarcador al actuar como sustituto de los puntos finales clínicos individuales (Pilot y Waldmann., 1998).

La FDA continúa promoviendo su uso en la investigación básica y clínica, así como la investigación sobre posibles nuevos biomarcadores para usar como sustitutos en ensayos futuros (Mahajan y Gupta., 2010), teniendo como fin el tener resultados clínicos para el análisis retrospectivo de la correlación de biomarcadores (Strimbu y Tavel., 2010).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se está viviendo una pandemia de DM que tiene la característica epidemiológica de no disminuir en frecuencia, intensidad ni gravedad.

La característica de epidemiológica del PD es que las personas que lo padecen tienen mayor discapacidad, alta morbilidad y mayor mortalidad.

Para permitir una detección oportuna se requiere de una herramienta de diagnóstico temprano que permita una mayor efectividad en tratamientos que permitirá disminuir los índices de amputaciones en de extremidades inferiores a través de cuidados preventivos y correctivos; asimismo, otra ventaja será la reducción del impacto social, económico y familiar de esta complicación de DM.

4. JUSTIFICACIÓN

Actualmente hay una tendencia en el aumento de casos con DM según los datos obtenidos de diferentes encuestas nacionales: En el año 2000 ENSA reportó un 5.8% de personas con DM, cifra que aumentó en el año 2006 al 7% según los datos arrojados por ENSANUT; misma encuesta que en el 2012 arrojó un 9.2% de personas con DM2 y finalmente calculó un 9.4% de personas con esta enfermedad

Asimismo, se ha reportado un aumento en las amputaciones de extremidades, de un 2% en el 2012 a un 5.5% en el 2016 con una incidencia de 41.2% de personas que manifiestan pérdidas de sensibilidad, dolor o ardor en los pies. El PD es la segunda causa de amputación de extremidades inferiores después de traumatismos.

Es de vital importancia su detección temprana, ya que, a pesar de las herramientas de clasificación y pronóstico actuales, no existe una herramienta de diagnóstico temprano para esta complicación del PD. Una herramienta de diagnóstico temprano puede permitir una adecuada intervención y así permitiendo tener una mayor efectividad en tratamientos, disminuyendo los índices de amputaciones de extremidades inferiores a través de cuidados preventivos y correctivos; reduciendo el impacto social, económico y familiar del PD.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Identificar biomarcadores para el diagnóstico temprano y de progresión de PDe en individuos con DM tipo 2.

5.2. Objetivos específicos

- Analizar los perfiles metabólicos de sujetos sin Diabetes Mellitus tipo 2 y con Diabetes Mellitus tipo 2 en los distintos estadios de PD
- Identificar metabolitos candidatos a biomarcador para el diagnóstico temprano y la progresión del Pie Diabético por medio de análisis multivariante.

6. MÉTODOS

6.1. Diseño del estudio

El diseño del estudio realizado correspondió al tipo observacional, transversal y comparativo.

Para la realización del estudio se debió cumplir con requisitos éticos y de registro de título a nivel facultativo; así como requisitos éticos a nivel institucional de salud estatal.

6.1.1. Consideraciones éticas y registro del estudio

Se tomó en cuenta lo establecido en:

- Ley federal de protección de datos personales en posesión de los particulares.
- Norma Técnica Número 313 para la presentación de proyectos e informes técnicos de investigación en las instituciones de atención a la salud.

Igualmente, se sometió el estudio a la aprobación de los siguientes comités:

- Honorable comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales.
- Comité estatal de investigación en salud de la Secretaría de Salud del Estado de Querétaro (SESEQ).
- Comité local de investigación del Hospital General de Querétaro (HGQ).

El presente trabajo fue registrado en la Facultad de Ciencias Naturales (FCN) de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) con el número de folio: 9832

Véase en Anexo 1 el diagrama de flujo de procesos para la aprobación de comités académicos e institucionales; así como el registro.

6.2. Muestra

Los voluntarios que aceptaron participar en este estudio fueron distribuidos en los siguientes grupos:

- Grupo de estudio de sujetos sin DM (SinDM2)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 0 (DM2+W0)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 1 (DM2+W1)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 2 (DM2+W2)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 3 (DM2+W3)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 4 (DM2+W4)
- Grupo de estudio de sujetos con PD en escala de Wagner 5 (DM2+W5)

Para la inclusión de voluntarios se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

6.2.1. Criterios de inclusión

- SinDM2.
 - Rango de edad de 45-64 años.
 - No tener DM diagnosticada.
 - Mujeres no embarazadas.
 - Mujeres que no estén lactando.
- DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5.
 - Rango de edad de 45-64 años.
 - Tener DM2 diagnosticada.
 - Tener PD diagnosticado en los estadios 0-5 de la clasificación de heridas de Wagner.
 - Mujeres no embarazadas
 - Mujeres que no estén lactando.

6.2.2. Criterios de exclusión

- SinDM2.
 - Estar fuera del rango de edad de 45-64 años.
 - Tener alguna enfermedad diagnosticada.
 - Mujeres embarazadas.
 - Mujeres que estén lactando.
- DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5
 - Estar fuera del rango de edad de 45-64 años.
 - Tener alguna complicación de DM diagnosticada.
 - Mujeres embarazadas.
 - Mujeres que estén lactando.

6.2.3. Criterios de eliminación

- SinDM2.
 - Candidatos a estudio no deseen participar.
 - Voluntarios que decidan dejar de participar.
 - Voluntarios que aún después de proporcionar su información, decidan abandonar el proyecto de investigación.
 - Voluntarios que no realicen la toma de muestra de sangre.
- DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5
 - Candidatos a estudio que no deseen participar.
 - Voluntarios que decidan dejar de participar.
 - Voluntarios que aún después de proporcionar su información decidan abandonar el proyecto de investigación.
 - Voluntarios que no completen toma de muestra de sangre.

6.2.4. Criterios de cambio de grupo de estudio.

- Voluntarios de cualquier grupo que sean detectados con criterios para algún otro grupo de estudio.

6.3. Reclutamiento

- SinDM2.
 - Invitación abierta al público general.
- DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5
 - Instalaciones de la clínica de heridas el HGQ, ubicado en: Avenida 5 de Febrero #101, colonia Los Virreyes, Código Postal 76171, Santiago de Querétaro, Querétaro, México; número de contacto 014422160039.

Para la difusión del proyecto dentro del hospital, se diseñaron trípticos informativos con el fin de invitar a la población objetivo (Véase Anexo 2).

6.3.1. Recolección de información y toma de muestra

A la par de la entrega de los turnos de atención de la Clínica de Heridas, se seleccionaron los posibles candidatos, a los cuales se invitó a participar en investigación. Al aceptar se trasladaron dentro de las instalaciones y ahí se firmó el consentimiento informado por duplicado; un juego para el voluntario y el otro se anexó al expediente personal del mismo. La participación fue en dos sesiones.

- Primera sesión (toma de datos): Después de leer, aceptar y firmar el consentimiento informado (Véase Anexo 3), se le asignó al ahora sujeto de estudio, un número de expediente con fines de confidencialidad. Se interrogó en las áreas: datos personales, toma de medidas antropométricas, historial clínico, exploración física de pies, evaluación sensorial de pies y clasificación de PD mediante la escala de Wagner y la escala de la Universidad de Texas. Posteriormente se citó al sujeto de estudio a una segunda sesión dándole las indicaciones en las que tenía que llegar dando por terminada la primera sesión.
 - Materiales e instrumentos de primera sesión: Hojas de expedientes, porta hojas plásticas para almacén de expediente individual, bolígrafo, báscula para peso corporal, estadímetro para longitud corporal, D-128 Hz metálico para prueba de sensibilidad

vibratoria, MSW-7.5/10 g para prueba de sensibilidad de presión y martillo neurológico para ReAq.

- Segunda sesión (toma de muestra de sangre): Se instaló una mesa de apoyo donde se colocaron todos los materiales necesarios para la toma de muestra de sangre. El sujeto de investigación se sentó para realizar una toma de presión arterial y una toma de muestra de sangre de 9 ml (5 ml tubo de hematología dorado y 4 ml tubo de sangre total EDTA purpura).
 - Materiales e instrumentos de segunda sesión: Sillón, baumanómetro, ligadura plástica y torunda alcoholada; para extracción de muestra: aguja tipo vacutainer, capucha tipo vacutainer, tubos para sangre total EDTA (purpura) y tubos para hematología (dorado); plumón tipo Sharpie® (para identificación de tubos), contenedor de material de desecho punzocortante, contenedor de material de desecho biológico, hielera y gel refrigerante (para transporte de muestras).
 - Control de calidad: Todos los materiales e instrumentos para la toma de muestra fueron nuevos y se utilizaron únicamente una vez.

Véase en Anexo 4 el diseño de historial clínico para SinDM2 y en Anexo 5 el de los demás grupos (DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4 y DM2+W5).

6.4. Pruebas sensoriales

Las pruebas sensoriales se realizaron durante la primera sesión de la recolección de información. La presión, vibración y ReAq se realizaron con el MSW-7.5/10 g, D-128 Hz y martillo neurológico, respectivamente.

En cada una de las evaluaciones se colocó a cada voluntario en posición decúbito supino, y antes de proceder se les hizo una prueba en las manos con fines de familiarizarse con la herramienta; posteriormente se les pidió mantener los ojos cerrados para evitar errores en la evaluación, así como engaños de la persona y se

procedió a iniciar. Las evaluaciones se realizaron en ambos pies, y en caso de tener un miembro inferior amputado, se realizó únicamente en el miembro existente.

6.4.1. Evaluación sensorial de presión con Monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g

Se realizó en los siguientes 6 sitios de cada extremidad inferior izquierda: superficie plantar del primer dedo (1), superficie plantar de las primera (2), tercera (3) y quinta (4) cabeza meta tarsiana; área plantar del talón (5) y lado medial dorsal del pie medio (6) (Véase Figura 4).



Figura 4. Puntos de evaluación del monofilamento de Semmes-Weinstein 7.5/10g

Se presionó cada uno de los puntos mencionados asignando el valor de 1 cada vez que el voluntario respondió positivamente a la aplicación de la herramienta (indicar que sí sentía), contrario a que si no sentía alguna se asignaba un valor de 0 y dando un total de 6 puntos.

6.4.2. Evaluación sensorial de vibración con Diapasón de 128 Hz

Se realizó una percusión el diapasón para obtener su vibración característica, posteriormente se colocó en el lado dorsal del primer orjejo de ambos pies (Véase Figura 5), tomando como respuesta a la evaluación un “Sí” en caso de que el voluntario manifestara percibir sensación, y un “No”, en caso de no percibir sensación. Al final quedaron las respuestas “Sensible” y “No sensible”.



Figura 5. Punto de evaluación del diapasón de 128 Hz

6.4.3. Evaluación de reflejo Aquileo con Martillo Neurológico

Se efectuó realizando una percusión sobre el tendón Aquileo (Véase Figura 6) haciendo uso de un martillo neurológico y se tomó como respuesta a la evaluación un “SÍ” en caso de haber un reflejo existente, y un “NO” en caso arreflexia de tendón. Al final quedaron las respuestas “Sensible” y “No sensible”.



Figura 6. Sitio de evaluación del reflejo aquileo con martillo neurológico

6.5. Toma de muestra de sangre

Con el fin de obtener muestra de sangre de los sujetos de estudio para los análisis bioquímicos y metabólicos, se instaló una mesa de apoyo en donde se colocaron todos los materiales necesarios para la toma de muestra de sangre, se sentó al sujeto de estudio y se le midió la presión arterial además de realizarle una toma de muestra de sangre de 9 ml (5 ml tubo de hematología dorado y 4 ml de tubo de sangre total EDTA púrpura previamente etiquetados).

El tubo dorado fue centrifugado a 3000 g/15 min para separar el suero sanguíneo del contenido plaquetario. Se reservaron 1.5 ml de suero para el análisis bioquímico y con el resto se recolectaron alícuotas de 200 μ l en tubos Eppendorf, estas últimas

fueron etiquetadas por separado y almacenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ dentro de las instalaciones del laboratorio de Bioquímica Molecular, perteneciente a las Instalaciones de la Facultad de Química (FQ) que pertenece a la UAQ ubicada en Cerro de las Campanas, Centro Universitario, s/n, Código Postal 76010, Santiago de Querétaro, Qro. México.

6.6. Análisis bioquímico

Tanto el tubo EDTA (púrpura) y la reserva de 1.5 ml de suero de sangre en tubo de hematología (dorado) fueron trasladados a la Unidad de Servicios Químicos (USQ) de la FQ ubicada dentro de la UAQ para la elaboración de un análisis químico sanguíneo de 6 elementos (QS-6) que incluyó: Glucosa (GLU), Urea (URE), Creatinina (CREAT), Ácido Úrico (AcUr), Colesterol (COL) y Triglicéridos (TG); además de realizar un análisis de Hemoglobina glicosilada (HbA1c) (concentración promedio de concentración de glucosa en sangre en los últimos 3 meses).

Para ver el diagrama de flujo del proceso de reclutamiento, captura de datos, toma de muestra de sangre, solicitud de análisis y almacenamiento de muestras, véase el Anexo 6.

6.7. Análisis metabólico

Para el análisis metabólico se prepararon los sueros de sangre extraídos de las muestras de los sujetos de estudio las fases a utilizar.

6.7.1. Preparación de muestras

Se realizó en dos etapas

- Separación de fases polar y apolar.
- Resuspensión de muestras.

6.7.1.1. Separación de fases: polar y apolar

Se retiraron del congelador de -80°C los tubos Eppendorf de 200 μl y se colocaron en refrigeración a 4°C . Al descongelarse, se recolectaron 80 μl del suero y se colocaron en otro tubo Eppendorf de 2 ml.

Después, en ese mismo tubo se agregaron 200 μl de cloroformo y 360 μl de metanol, se agitó en un Vortex durante 60 s y después se le añadió 200 μl de cloroformo y 200 μl de agua grado masas. Finalmente se agitó de nuevo en Vortex durante 60 s; seguido de una centrifugación a 4000 rpm/30 min/ 4°C .

Al terminar la centrifugación quedaron diferenciadas las fases (Véase Figura 7):

- Fase polar (metanol): Parte incolora superior.
- Fase de proteínas blanco: Parte blanca media.
- Fase no polar (cloroformo): Parte incolora inferior.



Figura 7. Separación de fases durante la extracción de metabolitos de las muestras séricas

Después de la separación, se recolectaron individualmente: 150 μl de la fase polar y 150 μl de la fase apolar en tubos Eppendorf de 2 ml (Véase Figura 8).



Figura 8. Recolección de fases polares de las muestras sericas

Una vez separadas, se deshidrataron (Véase Figura 9) por 7 h haciendo uso de un SPEEDVAC CONC.-HI CAP (modelo SC210a-115 y No. de serie X17Y-446108-XY) y posteriormente se almacenaron a -80 °C hasta que se realizara su resuspensión. Se repitió el proceso en todas y cada una de las muestras.



Figura 9. Fases polares de las muestras séricas concentradas al vacío

Se resuspendieron únicamente las fases polares a las que se les agregó individualmente 300 μ l de metanol grado masas y se sonicaron por 10 min; después se trasladaron 250 μ l a otro tubo Eppendorf de 2 ml y se centrifugaron a 12000 rpm/10 min.

Como último paso se volvieron a tomar 200 μ l del tubo y se colocaron dentro viales ámbar de 2 ml con inserto (Véase Figura 10) y se almacenaron a -80 °C hasta realizar el análisis metabolómico mediante el Cromatografo Líquido de Ultra Resolución acoplado a un Espectrómetro de Masas de Cuadrupolo-Tiempo de Vuelo (UPLC-QTOF MS^E).



Figura 10. Inserto con vial listo para inyección en el UPLC-QTOF MS^E

Véase en el Anexo 7 el proceso de separación, resuspensión de fases y preparación de vial ámbar.

Previo al análisis metabolómico, se realizó la preparación de las fases móviles.

6.7.2. Preparación de fases

Se requirió de:

- Frascos de 1 litro: 2 piezas
- Probeta graduada de 500 ml: 1 pieza
- Metanol
- H₂O UPLC
- Acetonitrilo
- Ácido fórmico
- Sonicator

Se etiquetaron dos frascos nuevos de 1 L como “FASE A” y “FASE B” y fueron lavados individualmente, así como la probeta graduada.

- LAVADO “FASE A”.
 - Lavar por triplicado con metanol.
 - Lavar por triplicado con H₂O UPLC.
- LAVADO “FASE B”.
 - Lavar por triplicado con metanol.
 - Lavar por triplicado con acetonitrilo.
- PREPARACION DE FASES.
 - Para frasco “FASE A”.
 - Lavar probeta por triplicado con metanol.
 - Lavar nuevamente por triplicado con H₂O UPLC.
 - Agregar a la probeta recién lavada: (1 ml + 60 µl) de ácido fórmico.
 - Completar los 500 ml con acetonitrilo.
 - Colocar los 500 ml de probeta en frasco “FASE A”.
 - Completar litro con 500 ml de acetonitrilo.
 - Para frasco FASE B.

- Lavar probeta por triplicado con metanol.
- Lavar nuevamente por triplicado con H2O UPLC.
- Agregar a la probeta recién lavada: (1 ml + 60 ul) de ácido fórmico y a diferencia de “FASE A”, completar los 500 ml con H2O UPLC.
- Colocar los 500 ml de probeta en “FASE B”.
- Completar litro con 500 ml de H2O UPLC.

Al estar preparadas las dos fases, tanto “FASE A” como “FASE B” se sonicaron por 15 minutos. Véase en Anexo 8 el proceso de la preparación de fases móviles.

6.7.3. Análisis metabólico por UPLC-QTOF MS^E

Se solicitó el análisis con las siguientes condiciones:

- Método empleado: González-Rodríguez *et al.*, 2018.
- Temperatura de columna: 35 °C.
- Temperatura de muestra: 10 °C.
- Flujo: 0.4 mL/min.
- Volumen de inyección: 2 µl.
- Modo de elución: Gradiente
- Fases móviles:
 - (A): Agua+0.1% ácido fórmico
 - (B): Acetonitrilo+0.1% ácido fórmico

Véase en Cuadro 5 las condiciones de los gradientes de concentración.

Cuadro 5. Condiciones de gradiente de la fase móvil del análisis por UPLC

TIEMPO	0	2 min	22 min	25 min	27 min	30 min
FASE A	95%	95%	5%	5%	95%	95%
FASE B	5%	5%	95%	95%	5%	5%

Las condiciones para el análisis por MS fueron:

- Tipo del análisis: No dirigido
- Tipo de experimento: Metabólico (MSE)
- Parámetros previos conocidos para la determinación por espectrometría de masas
- Energía de colisión de baja energía: 6
- Energía de colisión de alta energía: 15-45
- Voltaje de capilar: 2.0 y 3.5
- Voltaje de cono: 40

6.8. Análisis de datos

La información obtenida de los expedientes de los sujetos de estudio se capturó en la hoja de cálculo de Excel versión 2013 desarrollada por Microsoft para Windows®. Se realizaron los siguientes análisis.

6.8.1. Análisis de evaluación sensorial

Se determinaron asociaciones entre el comportamiento sensorial (sensibilidad e insensibilidad) en relación con la progresión del PD mediante un análisis de χ^2 .

Se realizó usando el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 20 desarrollado por IBM®.

6.8.2. Análisis de datos químico sanguíneos

Se compararon las concentraciones medias de QS6-6 y HbA1 en los diferentes grupos de estudio y se buscó entre cuales grupos de estudio existió diferencia significativa. Para esto, tanto para QS6-6 como para HbA1 se determinó mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Levene si existía distribución normal por grupo de estudio. Las variables aproximadamente Normales fueron analizadas

mediante un análisis de varianza (ANOVA), mientras que para las no normales se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

6.8.3. Análisis metabólico

Fue dirigido a la fase polar de las muestras séricas, se utilizó el software Progenesis QI® versión 2.0.554239162. Se descartaron los grupos que mostraron un desorden metabólico generalizado en QS-6 y HbA1c (DM2+W4 y DM2+W5).

6.8.3.1. Procesamiento de datos

Para la selección de los picos se eliminaron los que se encontraban fuera del rango de tiempo (0.037- 27 min); se alinearon los datos obtenidos y se tomó como referencia el pico con mayor porcentaje de similitud con el resto para realizar la alineación de los tiempos cromatográficos de todas las demás muestras.

Al obtenerse los componentes, cada uno de ellos fue sometido manualmente al proceso de deconvolución de picos, descartando aquellos picos que no tuvieran distribución, no mostraran fragmentación o donde se detectara ruido instrumental.

6.8.3.2. Análisis multivariado

El análisis multivariado de los datos obtenidos del perfil metabólico se realizó por medio de Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) utilizando el paquete MixOmics del Software R.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Herramienta de clasificación de Pie Diabético

Para este estudio se utilizó la herramienta de clasificación de Wagner para distribuir a los voluntarios en los diferentes grupos de estudio, ya que a pesar de contar con las desventajas mencionadas anteriormente; es la más usada (Gul., 2006; Praveena *et al.*, 2018), la más conocida, la más rápida y la de mayor historial en ámbito hospitalario (Rodríguez *et al.*, 2016); asimismo es la más mencionada en la literatura consultada. Véase en Figura 11 la progresión el PD con algunos sujetos de este estudio de acuerdo a la escala de clasificación de Wagner-Meggitt.



Figura 11. Visualización real de la escala de clasificación de Wagner-Meggitt

Sobre la elección de los sistemas de clasificación o pronóstico de PD, se ha reportado una correlación entre riesgo de amputación y grado de clasificación, es decir, que a mayor grado en la clasificación mayor será el riesgo de amputación, sin importar la herramienta que se decida utilizar (Smith CL, 2004).

7.2. Muestra

Se reclutó una muestra total de 99 voluntarios en los diferentes grupos de estudio, siendo que se logró el reclutamiento de una mayor cantidad de sujetos en estadios tempranos de PD (Wagner 1-3) (Véase Figura 12). El 15.9% de las personas con

DM2 fueron catalogadas dentro del grupo DM2+W0, clasificación en la que si bien no existe úlcera, no los exenta del riesgo de desarrollarlas (Parial *et al.*, 2013), es por ello que se considera como estadio 0 de PD de acuerdo a la escala de Wagner.

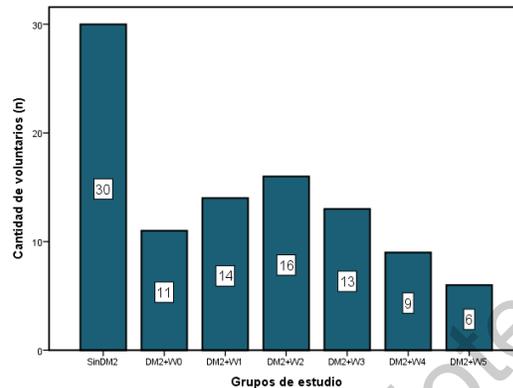


Figura 12. Distribución de la muestra en los diferentes grupos de estudio

7.2.1. Sexo

Se reclutaron 42 mujeres y 57 hombres de la población total de estudio. Se observó una mayor prevalencia del sexo masculino en la mayoría de los diferentes grupos de estudio con PD (Véase Figura 13). Sobre esto, se ha reportado que los hombres tienen mayor riesgo de padecer PD que las mujeres (Gul *et al.*, 2006; Molodchik, M., & Molodchik, A., 2013; Parial *et al.*, 2013; *et al.*, 2013), esto está asociado con las actividades diarias donde la fuerza y el roce ejercen la presión que provocan una lesión (Meng W. *et al.*, 2017).

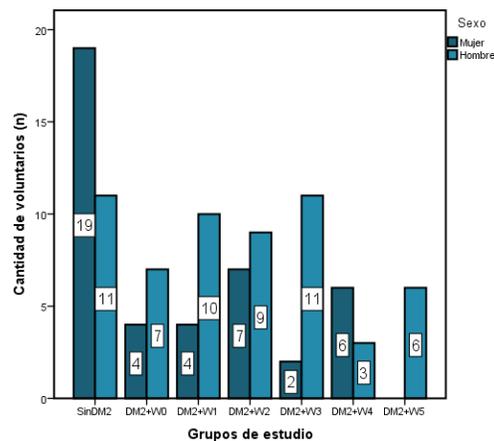


Figura 13. Distribución de sexo en los grupos de estudio

7.2.2. Edad

La edad media de la muestra fue de 53.03 ± 5.2 años (Véase Figura 14), sin mostrar diferencia significativa entre los grupos de estudio.

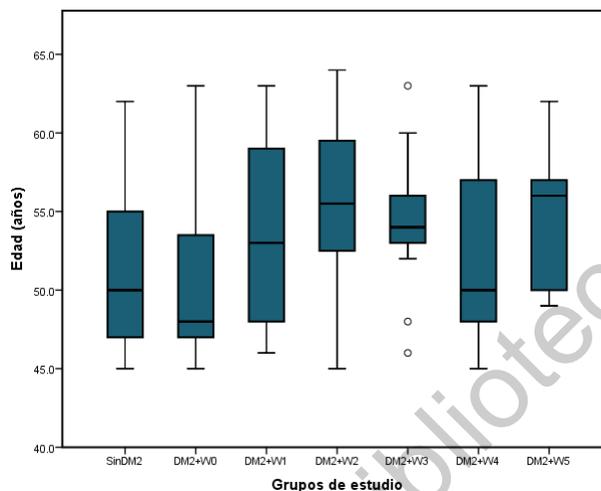


Figura 14. Edad media por grupos de estudio.

No se encontró diferencia significativa entre los diferentes grupos de estudio.

7.3. Análisis bioquímicos

7.3.1. Hemoglobina glicosilada

La HbA es la más abundante de las tres diferentes fracciones de hemoglobina (representa el 97%) y dependiendo del azúcar con el que se incorpore, se obtienen diferentes sub fracciones conocidas como hemoglobinas menores o rápidas, en este caso se une a la glucosa mediante una glicación (Bracho-Nava., *et al.*, 2015) y dependerá de la exposición de los eritrocitos a la glucosa (Pereira Despaigne *et al.*, 2015) surgiendo así la Hb1Ac que es la más abundante (aproximadamente 80%) de los componentes menores de la hemoglobina en los eritrocitos humanos, por lo que hay una relación de que a mayor glicemia, mayor adición de glucosa a la hemoglobina (Bracho-Nava., *et al.*, 2015).

La Hb1Ac se forma continuamente los 120 días de vida del eritrocito, y es por esto que su medida refleja el promedio de glucosa durante los últimos 3 meses (Parial *et*

al., 2013; Pereira Despaigne *et al.*, 2015; Bikramjit *et al.*, 2017) estableciéndose como un marcador para supervisar el estado de un paciente con DM (Pereira Despaigne *et al.*, 2015; Bikramjit *et al.*, 2017) y marcador de adherencia al tratamiento (Dhatariya *et al.*, 2018).

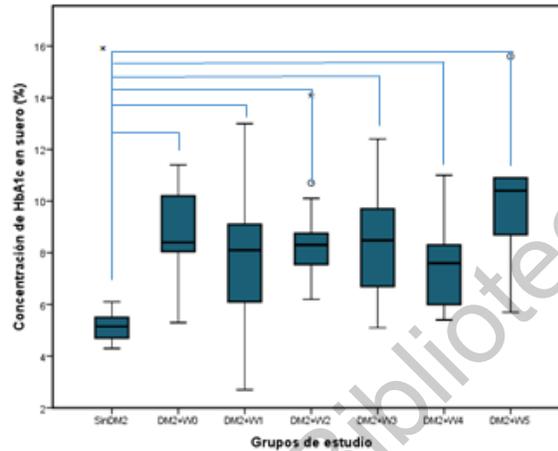


Figura 15. Concentración media de HbA1c por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

Véase en Figura 15 la concentración media de HbA1c (%) por grupo de estudio. Como era de esperarse, el grupo SinDM2 presentó valores de Hb1Ac < 5.7%, lo que indica un bajo riesgo de desarrollar DM2 (Bikramjit *et al.*, 2017). La media de Hb1Ac de los diferentes grupos con DM2 fue de 8.548%, porcentaje similar a lo reportado por Chinenye *et al* (2012), donde los pacientes con DM2 resultaron en un 8.3% de Hb1Ac.

Siguiendo con los participantes de este estudio con DM2 en los diferentes estadios de PD de la escala de Wagner presentaron Hb1A > 5.7% siendo DM2+W4 el grupo con el porcentaje más bajo de Hb1Ac, valores similares a lo reportado por Bikramjit *et al* (2017) que reportaron una Hb1Ac > 7% en todos sus sujetos (n=89) de estudio; Bikramjit reportó un 84.81% de sujetos con DM2 con Hb1A > 8% (Bikramjit *et al.*, 2017), dato muy similar a lo reportado por Parial *et al* (2013) donde un 86% de los voluntarios con DM2 presentaron Hb1Ac de 8.86% (Parial *et al.*, 2013); estos dos

porcentajes son mayores a lo obtenido en este estudio, ya que las personas con DM con Hb1Ac>8% fue el 46%.

Es importante desatacar que no se observaron diferencias significativas entre los grupos de DM2 con los distintos estadios de PD, lo que indica una falta de relación con la progresión de la enfermedad. Estos resultados son contrarios a lo esperado, ya que se ha reportado que existe una correlación entre las complicaciones a largo plazo, como la amputación de extremidades inferiores en pacientes con DM (Bikramjit *et al.*, 2017; Dhatariya *et al.*, 2018), un escaso control de DM y niveles elevados de Hb1Ac (Pereira Despaigne *et al.*, 2015; Dhatariya *et al.*, 2018).

En el caso particular de PD, se ha observado que la curación de la herida es significativamente más lenta si los niveles de Hb1Ac son altos así como lo reportó Dhatariya *et al.* (2018), donde un tiempo de curación de heridas promedio con Hb1Ac descontrolada fue de 126.9 días, en comparación con Hb1Ac controlada con un promedio de cicatrización de 78.0 días, concluyendo que la Hb1Ac es predictor más fuerte para la curación de heridas que la variación de glucosa (Dhatariya *et al.*, 2018), observación especialmente significativa en las úlceras localizadas en los pies (Bikramjit *et al.*, 2017).

7.3.2. Glucosa

Como era de esperarse, el grupo SinDM2 mostró valores significativamente menores que los grupos con DM2 en los distintos estadios de PD (Véase Figura 16) debido a que la concentración de glucosa en sangre está regulada y normalizada en individuos sanos (Bracho-Nava., *et al.*, 2015), mientras que en personas con DM2 no controlada aumenta sustancialmente, definiéndose clínicamente como hiperglucemia (Stefano *et al.*, 2016).

La hiperglucemia en periodos prolongados actúa en interrupciones importantes de funciones mitocondriales normativas que resultan en lesiones celulares y metabólicas que afectan diversos órganos periféricos y tejidos nerviosos centrales

(Stefano *et al.*, 2016; Dhatariya *et al.*, 2018). Niveles elevados de glucosa en sangre se asocia a una disminución tanto del óxido nítrico como de la prostaciclina en los vasos sanguíneos, creando así un desequilibrio en la proporción de vasodilatador/vasoconstrictor (Rao., 2018), favoreciendo el desarrollo de complicaciones de la DM2.

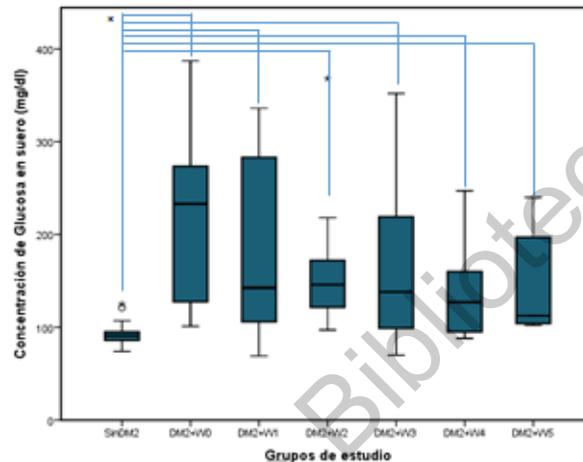


Figura 16. Concentración media de glucosa por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

Con respecto a los niveles séricos de glucosa (Figura 16), se observó una tendencia similar que en los niveles de Hb1Ac (Figura 15). Como era de esperarse, todos los grupos con DM2 presentaron niveles elevados de glucosa con respecto al grupo sano, indicando la presencia de hiperglucemia. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos de progresión de PD. Estos resultados son contrarios a lo esperado, ya que se ha reportado que las concentraciones medias de glucosa en los diferentes estadios de PD son anormalmente altas (Praveena *et al.*, 2018), situación que se relaciona con una cicatrización deteriorada de heridas (Surriah *et al.*, 2019) debido a trastornos de la piel como afección al colágeno, disminución de flexibilidad y aumento de rigidez que se correlacionan con el control glucémico (De Maedo *et al.*, 2016).

Lo anterior se origina debido a que a mayor disposición de glucosa, mayor disposición de la misma, lo que deriva en un aumento de especies reactivas de

oxígeno (EROs) que dañan al ADN, inhiben la enzima glucosa 3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) y activan la enzima reparadora polimerasa; generando un cambio hacia las vías de glicolisis alternas, aumentando los productos finales de glucosilación avanzada (AGEs), responsables, en mayor medida, de los daños celulares, aumento de producción de depósitos de colágeno en musculo cardiaco y liso arterial causando rigidez; aumento de disfunción endotelial y aterosclerosis; y junto a la mayor producción de hexosamina, la activación de la protein Kinasa C y aumento en la vía de los polioles.

La activación de la vía de los polioles se ha relacionado con el desarrollo de PD, ya que durante una hiperglucemia prolongada, la glucosa entra al axón, célula de Shwann y nódulos de Ranvier bajo la acción de la aldosa reductasa que se transforma en sorbitol, el cual tiende a sobre-expresarse en nervios de tamaño pequeño, aumentando los niveles de EROs (Páez *et al.*, 2016) (Véase Figura 17). Es por ello que para lograr un control adecuado en el tratamiento del PD se recomienda un estricto control glucémico además del desbridamiento de heridas, vendaje de heridas, evitar aumento de presión, antibióticos y manejo de la enfermedad vascular (Inzucchi *et al.*, 2015; Bikramjit *et al.*, 2017; Davis *et al.*, 2018).

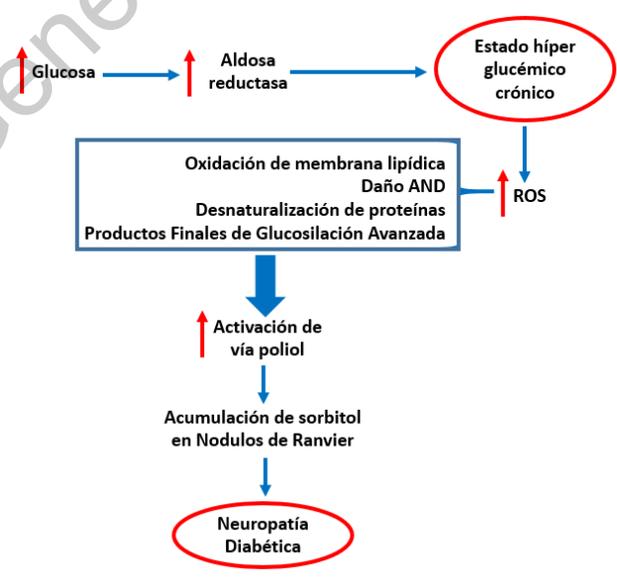


Figura 17. Desarrollo de neuropatía diabética a partir de hiperglucemia crónica

7.3.3. Urea

Las concentraciones medias de urea en los grupos SinDM2 y DM2+W0 fueron menores que las encontradas en los grupos DM2 con estadios de Wagner 1 al 4, mientras que el grupo con DM2+W5 presentó bajos niveles de urea, similares a los grupos SinDM2 y DM2+W0 (Véase Figura 18). Cabe resaltar que los grupos de estudio con PD presentaron una alta varianza en los niveles séricos de urea, lo que sugiere que algunos de estos individuos podrían presentar daño renal como comorbilidad. Sin embargo, de acuerdo a los niveles séricos de urea, el grupo DM2+W0 no presentó alteraciones en la función renal. Dichos resultados son contrarios a lo esperado, Bamanikar *et al.* (2016) reportaron una concentración media de urea en suero de 18.31 mg/dl en personas sin DM2 y de 29.22 mg/dl en personas con DM2 (Bamanikar *et al.*, 2016).

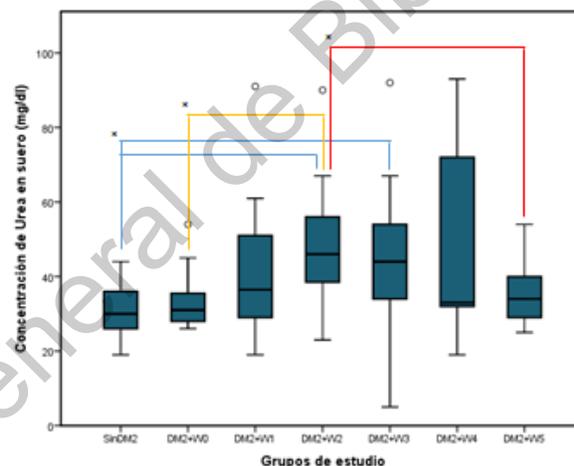


Figura 18. Concentración media de urea por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

Se ha reportado que niveles elevados de urea en sangre en presencia de concentraciones altas de glucosa (característica de las personas con DM2) indica falla renal (Bamanikar *et al.*, 2016), lo cual ha su vez está asociado con un aumento en los niveles de creatinina en sangre (Patel *et al.*, 2016). Las concentraciones elevadas de urea en personas con DM2 pueden atribuirse a una disminución en la capacidad de filtración de los glomérulos renales, lo que conlleva a la acumulación

de productos de desecho dentro del organismo (Patel *et al.*, 2016). Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio indican la presencia de daño renal como una comorbilidad en los participantes con PD.

Pandya *et al.* (2016) explican que el daño al riñón se efectúa cuando las nefronas son dañadas por los altos niveles crónicos de glucosa, causando una homeostasis insuficiente para mantener líquidos y electrolitos; esta disminución de tasa de filtrado glomerular produce un aumento en las concentraciones plasmáticas de urea y creatinina en suero; y aunque la creatinina tiene mayor capacidad de pronóstico para predecir resultados adversos en comparación con la urea, tanto urea como creatinina indican la progresión de enfermedad renal y son los parámetros más ampliamente aceptados para evaluar el estado de la enfermedad renal crónica (Pandya *et al.*, 2016).

Akha *et al.* (2010) midieron la concentración media de urea en personas con DM2 sin miembros inferiores amputados y personas con DM2 con un amputación en el miembro inferior, reportando una media general de urea de 48.5 mg/dl, concentración similar a la media general encontrada en el presente estudio (41.65 mg/dl). Yusof *et al.* (2015) compararon la concentración media de urea de personas con DM2 con amputación menor de miembros inferiores (50.46 mg/dl) y un grupo de personas con DM2 con amputación mayor de miembros inferiores (88.3 mg/dl), concentraciones mayores que las obtenidas en este estudio. Finalmente, Atosona y Larbie (2019) reportaron una asociación significativa entre la prevalencia de amputaciones en DM de extremidades inferiores y la concentración de la urea sérica.

En cuanto a la concentración media de urea por estadio de PD mediante la clasificación de Wagner, se localizó un único estudio comparativo de esas características en la literatura consultada; en dicho estudio AL-Shammaree *et al.* (2017) reportaron las siguientes concentraciones de urea en los grupos de estudio: PD no infectado (DM2+W0 y DM2+W1) con una concentración media de urea de 32.58 mg/dl; PD infectado (DM2+W2, DM2+W3 y DM2+W4 y DM2+W5) con una

concentración media de urea de 37.36 mg/dl; personas con DM sin complicaciones en pie (DM2+W0) con una concentración media de urea de 26.18; grupo control (SinDM2) con una concentración media de urea de 24.19 mg/dL.

7.3.4. Creatinina

Los niveles séricos de creatinina del grupo SinDM2 fueron similares a los observados en los estadios temprano de PD (DM2+W0 y DM2+W1) (véase Figura 19). En estudios previos se ha reportado que sujetos sanos presentan niveles más bajos de creatinina con respecto a sujetos con DM2 (0.89 vs 1.13 mg/dL) (Bamanikar *et al.*, 2016), además en este estudio se reportó una concentración mayor de creatinina en hombres que en mujeres, esto puede deberse al almacén de creatinina como producto de desecho de masa muscular, además de la mayor tasa muscular en hombres (Bamanikar *et al.*, 2016).

Asimismo, Patel *et al.* (2016) reportaron una concentración media de creatinina de 0.75 mg/dl en el grupo sin DM2 que resulto menor que la concentración media de creatinina en el grupo con DM2 (1.21 mg/dl) (Patel *et al.*, 2016), reportando que un aumento de creatinina y urea en suero de sangre indican disfunción renal y su progresión de la nefropatía diabética (El Boghdady y Badr., 2012).

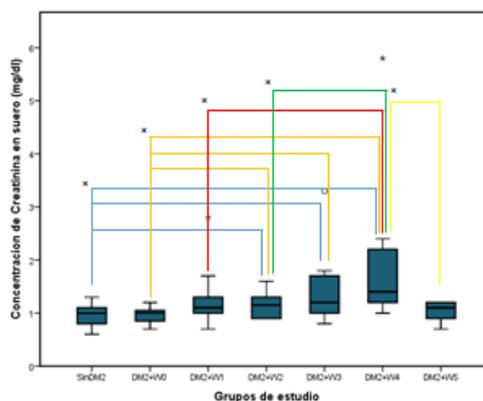


Figura 19. Concentración media de creatinina por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

En cuanto a la relación de creatinina con amputaciones en DM2, Akha *et al.* (2010) y Yusof *et al.* (2015) realizaron un estudio comparativo de dos grupos: uno de personas con DM2 sin amputación de miembro inferior y otro de personas con DM2 con amputación en miembro inferior, sus resultados arrojaron que el grupo de personas con DM2 sin amputaciones de miembros inferiores presentó una concentración media de creatinina de 1.26-1.28 mg/dL; mientras que las personas con DM2 con amputaciones de miembros inferiores tuvieron una concentración media de creatinina de 1.78-2.62 mg/dl. Por lo que dichos autores concluyeron que la creatinina podría ser utilizada como un marcador en DM2 para la prevención de amputaciones de miembros inferiores. Shibu *et al.*, (2017) reportaron que existe una relación entre el PD y una disfunción renal asociada. Finalmente, se observó una alta dispersión intergrupar debido a la alta variabilidad interindividual de los sujetos de estudio.

En cuanto a la concentración media de creatinina por estadio de PD mediante la clasificación de Wagner, AL-Shammaree *et al.* (2017) reportaron los siguientes resultados: PD no infectado (DM2+W0 y DM2+W1) con una concentración media de creatinina de 0.87 mg/dl; PD infectado (DM2+W2, DM2+W3 y DM2+W4 y DM2+W5) con una concentración media de creatinina de 1.1 mg/dl; personas con DM2 sin complicaciones en pie (DM2+W0) con una concentración media de creatinina de 0.83 mg/dl; grupo control (SinDM2) con una concentración media de creatinina de 0.75 mg/dl).

Resultados similares fueron encontrados en el presente estudio, en donde los individuos con DM2 y estadios de Wagner 0, 1, 2 y 3 (individuos sin amputaciones) presentaron una concentración media de creatinina de 1.17 mg/dl, concentraciones menores a las observadas en los individuos con DM2 y estadios de Wagner 4 (individuos con amputaciones) (1.51 mg/dl). Sin embargo, en este estudio se encontró que los individuos del grupo DM2+W5 mostraron niveles bajos de creatinina en comparación del grupo DM2+W4, lo cual sugiere una descompensación metabólica.

7.3.5. Ácido úrico

Al igual que en creatinina, los resultados obtenidos de la concentración media de ácido úrico indican que los grupos SinDM2 y DM2+W0 presentan valores más bajos que los grupos de DM2+W1 a W5 (Véase Figura 20); siendo que en este parámetro no se observa el comportamiento anómalo del grupo DM2+W5 observado en los niveles séricos de creatinina (Véase Figura 19). Por lo que se observa una clara relación entre la presencia de lesiones o úlceras en los pies (W1 a W5) y los niveles elevados de ácido úrico; sin embargo, no se observa una tendencia lineal con respecto a la progresión del PD. Lo anterior sugiere la presencia de comorbilidades asociadas al PD, ya que niveles elevados de ácido úrico se han asociado con disfunción endotelial, cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular (Papanas *et al.*, 2011).

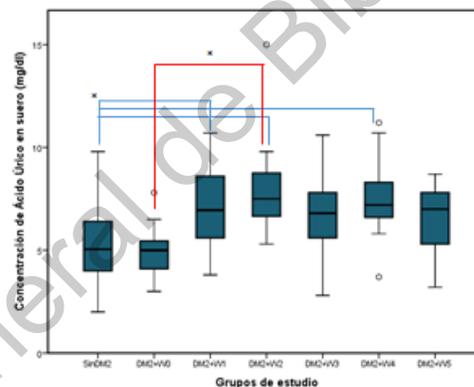


Figura 20. Concentración media de ácido úrico por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio. No hay patrón claro.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a lo reportado por Papanas *et al.* (2011), quien reporta valores de ácido úrico más bajos en pacientes con DM2 sin ND en comparación con aquellos con ND (5.7 vs 8.1 mg/dL). Con respecto a la progresión del PD, Kiani *et al.* (2014) reportaron que los pacientes con DM2 sin ND presentaron una concentración media de ácido úrico de 4.96 mg/dL, la cual se vio incrementada en pacientes con ND leve (4.28 mg/dl); ND moderada (4.94 mg/dl) y ND grave (5.13 mg/dl), comportamiento que no fue observado en el presente estudio.

Con respecto a la progresión de PD de acuerdo a la escala de Wagner, Al-Shammaree *et al.* (2017) reportó el grupo PD no infectado (DM2+W0 y DM2+W1) con una concentración media de ácido úrico de 3.96 mg/dl, PD infectado (DM2+W2, DM2+W3 y DM2+W4 y DM2+W5) con 4.9 mg/dl, prsonas con DM2 sin complicaciones en pie con 3.74 1.2 mg/dl, y grupo control con 3.97 ± 0.37 mg/dl, observando una tendencia similar a la obtenida en este estudio de acuerdo a los estadios de PD.

Niveles elevados de ácido úrico se asocian con DM debido al alto estrés oxidativo; además, la concentración elevada de ácido úrico puede resultar del efecto que produce la hiperinsulinemia en los túbulos renales, disminuyendo su excreción (Cardona *et al.*, 2009). Sobre la tendencia al aumento de ácido úrico con el desarrollo de PD, Kanbay *et al.* (2016) menciona que con un aumento en ácido úrico resulta una sobre-activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y el sistema de óxido nítrico, generando un aumento en la vasoconstricción; mientras que el aumento en el sistema de óxido nítrico, genera un aumento en la vasodilatación. Estos dos aumentos (vasoconstricción y vasodilatación), generan daño a vasos sanguíneos conllevando a una isquemia (Kanbay *et al.*, 2016), la cual es una complicación macrovascular asociada al desarrollo del PD (Véase figura 21).

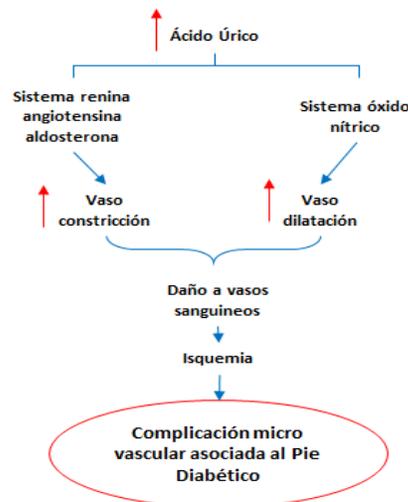


Figura 21. Relación entre ácido úrico y las copmlicaciones microvasculares asociadas al Pie Diabético

7.3.6. Colesterol

Con respecto a los niveles séricos de colesterol, se observó una tendencia a la baja conforme avanza la progresión del PD con una ligera elevación en DM2+W2 (Véase Figura 22).

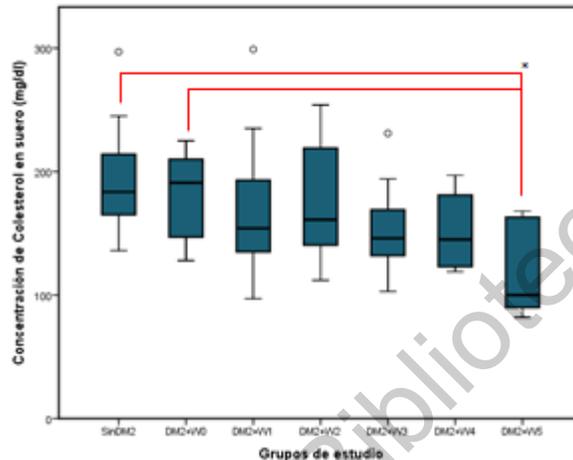


Figura 22. Concentración media de colesterol por grupo de estudio

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

En la literatura consultada se han reportado diferentes resultados en la relación entre colesterol y DM y PD; entre los estudios que reportan resultados similares a los obtenidos en esta investigación se encuentra el estudio comparativo de Ye *et al.* (2014) que incluyó dos grupos: uno de personas con DM2 sin ulcera de PD y otro grupo con DM2 con ulcera de PD sin encontrar diferencia significativa (Ye *et al.*, 2016) mostrando una tendencia a la baja.

Por otro lado, González-Mayo *et al.* (2017) y Shibu *et al.* (2017) reportaron datos diferentes. González-Mayo *et al.* (2017) reportaron diferencias significativas en la concentración de colesterol de un grupo de personas sin DM2 (154 mg/dl) y otro grupo con DM2 (214 mg/dl), siendo que se considera la hipercolesterolemia como una alteración metabólica asociada con la DM2 que contribuye al riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, en el presente estudio no se observaron diferencias significativas entre el grupo SinDM2 y el grupo DM2+W0. De manera similar, Yusof *et al.* (2015) reportaron que no se encontró una relación

entre dislipidemia con una mayor amputación de miembros inferiores (Yusof *et al.*, 2015); sin embargo, de manera contraria, Atosona y Larbie *et al.* (2019) identificaron la dislipidemia como factor de riesgo para el desarrollo de úlceras de PD.

AL-Shammaree *et al.* (2017) reportaron individuos con PD no infectado (DM2+W0 y DM2+W1) con una concentración media de COL de 197.28 mg/dl, con PD infectado (DM2+W2, DM2+W3 y DM2+W4 y DM2+W5) con 199.08 mg/dl, con DM2 sin complicaciones en pie con 188.35 mg/dl, mientras que el grupo control con 166.75 mg/dL. Por lo que concluyeron que los niveles elevados de colesterol están asociados con el desarrollo de DM2 pero no con el desarrollo y la progresión de PD.

7.3.7. Triglicéridos

La concentración media de triglicéridos de los participantes con DM2 fue mayor que la de los participantes aparentemente sanos (SinDM2), con excepción del grupo DM2+W5 (Véase Figura 23), siendo que este último grupo presento un comportamiento anormal, lo que sugiere una falla metabólica posiblemente. Con respecto a la progresión de PD, se observa que los niveles de TG muestran una tendencia a incrementar conforme avanza la complicación, presentando un máximo en el estadio de Wagner 2, y luego reduciendo los niveles, presentando un mínimo en el estadio Wagner 5.

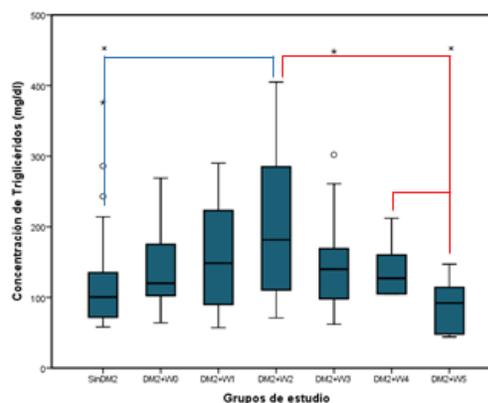


Figura 23. Condntración media de triglicéridos por grupo de estudio.

Las líneas representan diferencias significativas entre grupos los grupos de estudio.

La elevación de los triglicéridos sanguíneos durante la DM2 ha sido previamente reportada, y es considerada como una alteración metabólica consecuente de una hiperglucemia descontrolada (De Macedo *et al.*, 2016 y Shibu *et al.*, 2017).

Con respecto a la relación de triglicéridos y PD se han reportado resultados cotnradictorios. Kiani *et al.* (2014) reportaron un ligero aumento en los niveles séricos de triglicéridos en individuos con DM2 y ND en comparación con individuos con DM2 sin ND (157 vs 146 mg/dL), sugiriendo una asociación entre la ND e hiperlipidemia, tendencia similar a la observada en el presente estudio. Sin embargo, Yusof *et al.* (2015) y Atosona y Larbie (2019) no encontraron asociación entre los niveles séricos de triglicéridos y la amputación de miembros superiores.

En cuanto a la concentración media de triglicéridos por estadio de PD mediante la clasificación de Wagner, AL-Shammaree *et al.* (2017) reportaron que los individuos con PD no infectado presentaron una concentración media de triglicéridos de 183.32 mg/dl, con PD infectado de 255.67 mg/dl, con DM2 sin complicaciones en pie de 179.47 mg/dl, mientras que el grupo control de 90.56 ± 28.53 mg/dl, indicando que la complicación del PD está asociada con niveles elevados de triglicéridos.

La hipertrigliceridemia en DM2 se puede explicar partiendo de que las personas que la padecen suelen tener obesidad abdominal y visceral, situación que se asocia con insulinoresistencia, hiperinsulinemia y dislipidemia aterogénica. Este mecanismo de resistencia a insulina inducida por grasa visceral se da en parte porque el tejido adiposo libera adipocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6). Con la progresiva resistencia a insulina, aumenta la liberación por parte de los adipocitos de ácidos grasos libres que inducen la síntesis hepática de triglicéridos y estimulan la producción de apolipoproteína B, generando partículas VLDL ricas en triglicéridos.

7.4. Evaluaciones

Se realizó la evaluación sensorial de las extremidades inferiores por medio de monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g y diapasón de 128 Hz, y se evaluó el reflejo Aquileo con martillo neurológico de los participantes del estudio. Lo anterior con el fin de identificar si dichas pruebas sensoriales podrían ayudar en el diagnóstico oportuno del PD, puesto que la escala de Wagner utilizada en los hospitales para el diagnóstico de PD dependen de la presencia de lesiones en los pies, lo que corresponde a un diagnóstico tardío. Mientras que la pérdida de sensibilidad en las extremidades inferiores corresponde a estadios más tempranos de la neuropatía diabética, por lo que podrían ser utilizadas como herramientas para el diagnóstico oportuno del PD.

7.4.1. Monofilamento de Semmes—Weinstein de 7.5/10 g

Como era de esperarse, el grupo SinDM2 presentó una sensibilidad del 100% y un 0% de insensibilidad en extremidades inferiores izquierdas y derechas con la prueba de monofilamento (véase Cuadro 6 y 7). Se observa una tendencia inversa entre la sensación de sensibilidad en las extremidades inferiores y la progresión de PD en etapas tempranas, hasta el estadio de Wagner 3, mientras que en etapas avanzadas (Wagner 4 y 5) no se observa una tendencia clara, lo que podría estar relacionado a la presencia de úlceras, gangrenas y, en algunos casos, amputaciones.

Es importante destacar que el grupo DM2+W0, los cuales corresponden a aquellos individuos que aún no presentan lesiones visibles en los pies, presentaron una prevalencia de insensibilidad de 9.1% (n=1) en extremidad inferior izquierda y 18.2% (n=2) en extremidad inferior derecha. Por lo tanto, la prueba de monofilamento no puede ser utilizada para el diagnóstico oportuno del PD, es decir, previo a la aparición de lesiones físicas.

Cuadro 6. Comportamiento sensorial de extremidad inferior izquierda con monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g.

Grupos de estudio	Diagnóstico de evaluación sensorial con MSW-7.5/10g en extremidad inferior izquierda			Total	
	Insensible	Sensible	Amputada		
SinDM2	n	0	30	0	30
	%	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W0	n	1	9	1	11
	%	9.1%	81.8%	9.1%	100.0%
DM2+W1	n	6	8	0	14
	%	42.9%	57.1%	0.0%	100.0%
DM2+W2	n	9	7	0	16
	%	56.2%	43.8%	0.0%	100.0%
DM2+W3	n	8	3	2	13
	%	61.5%	23.1%	15.4%	100.0%
DM2+W4	n	9	0	0	9
	%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%
DM2+W5	n	3	3	0	6
	%	50.0%	50.0%	0.0%	100.0%

Valor de p=0.000

Cuadro 7. Comportamiento sensorial de extremidad inferior derecha con monofilamento de Semmes-Weinstein de 7.5/10 g

Grupos de estudio	Diagnóstico de evaluación sensorial con MSW-7.5/10g en extremidad inferior derecha.		Total	
	Insensible	Sensible		
SinDM2	n	0	30	30
	%	0.0%	100.0%	100.0%
DM2+W0	n	2	9	11
	%	18.2%	81.8%	100.0%
DM2+W1	n	5	9	14
	%	35.7%	64.3%	100.0%
DM2+W2	n	10	6	16
	%	62.5%	37.5%	100.0%
DM2+W3	n	9	4	13
	%	69.2%	30.8%	100.0%
DM2+W4	n	7	2	9
	%	77.8%	22.2%	100.0%
DM2+W5	n	5	1	6
	%	83.3%	16.7%	100.0%

Valor de p=0.000

7.4.2. Diapasón de 128 Hz

Véase en los Cuadros 8 y 9 los resultados del comportamiento sensorial obtenidos con la prueba de diapasón en extremidades inferiores izquierdas y derechas, respectivamente. Como era de esperarse, el grupo SinDM2 presentó una sensibilidad del 100% y un 0% de insensibilidad en extremidades inferiores izquierdas y derechas. Es importante destacar que todos o la mayoría de los individuos con estadios tempranos de PD (DM2+W0, DM2+W1 y DM2+W3) presentaron sensibilidad en ambas extremidades inferiores, por lo que esta prueba no es adecuada para diagnóstico temprano de PD.

Con respecto a los estadios avanzados (DM2+W4 y DM2+W5) presentaron una prevalencia >50% en extremidades inferiores izquierdas, mientras que la prevalencia fue mayor en extremidades inferiores derechas (100 y 66.7%, respectivamente).

Cuadro 8. Comportamiento sensorial de extremidad inferior izquierda con siapasón de 128 Hz

Grupos de estudio	Diagnóstico de evaluación sensorial con D-128 Hz en extremidad inferior izquierda.			Total	
	Sensible	Insensible	Amputada		
SinDM2	n	30	0	0	30
	%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%
DM2+W0	n	10	0	1	11
	%	90.9%	0.0%	9.1%	100.0%
DM2+W1	n	13	1	0	14
	%	92.9%	7.1%	0.0%	100.0%
DM2+W2	n	15	1	0	16
	%	93.8%	6.2%	0.0%	100.0%
DM2+W3	n	8	3	2	13
	%	61.5%	23.1%	15.4%	100.0%
DM2+W4	n	5	4	0	9
	%	55.6%	44.4%	0.0%	100.0%
DM2+W5	n	3	3	0	6
	%	50.0%	50.0%	0.0%	100.0%

Valor de $p=0.000$

Cuadro 9. Comportamiento sensorial de extremidad inferior derecha con diapasón de 128 Hz

Grupo de estudio	Diagnóstico de evaluación sensorial con D-128 Hz en extremidad inferior derecha.		Total	
	Sensible	Insensible		
SinDM2	n	30	0	30
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W0	n	11	0	11
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W1	n	14	0	14
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W2	n	14	2	16
	%	87.5%	12.5%	100.0%
DM2+W3	n	12	1	13
	%	92.3%	7.7%	100.0%
DM2+W4	n	9	0	9
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W5	n	4	2	6
	%	66.7%	33.3%	100.0%

Valor de p=0.017

7.4.3. Reflejo Aquileo con martillo neurológico

Como era de esperarse, el grupo SinDM2 presentó una sensibilidad del 100% y un 0% de insensibilidad en extremidades inferiores izquierdas y derechas (véase Cuadros 10 y 11). No se observó una tendencia lineal entre la progresión de PD con la escala de Wagner y el reflejo aquileo en ambas extremidades.

Cuadro 10. Comportamiento sensorial de extremidad inferior izquierda con martillo neurológico.

Grupos de estudio	Diagnóstico de evaluación sensorial con Martillo Neurológico en extremidad inferior izquierda			Total	
	Sensible	Insensible	Amputada		
SinDM2	n	30	0	0	30
	%	100.0%	0.0%	0.0%	100.0%
DM2+W0	n	10	0	1	11
	%	90.9%	0.0%	9.1%	100.0%
DM2+W1	n	13	1	0	14
	%	92.9%	7.1%	0.0%	100.0%
DM2+W2	n	11	5	0	16
	%	68.8%	31.2%	0.0%	100.0%
DM2+W3	n	10	1	2	13
	%	76.9%	7.7%	15.4%	100.0%
DM2+W4	n	7	2	0	9
	%	77.8%	22.2%	0.0%	100.0%
DM2+W5	n	3	3	0	6
	%	50.0%	50.0%	0.0%	100.0%

Valor p=0.002

Cuadro 11. Comportamiento sensorial de extremidad inferior derecha con martillo neurológico

Grupo de estudio		Diagnóstico de evaluación sensorial con Martillo Neurológico en extremidad inferior derecha.		Total
		Sensible	Insensible	
SinDM2	n	30	0	30
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W0	n	11	0	11
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W1	n	14	0	14
	%	100.0%	0.0%	100.0%
DM2+W2	n	10	6	16
	%	62.5%	37.5%	100.0%
DM2+W3	n	12	1	13
	%	92.3%	7.7%	100.0%
DM2+W4	n	8	1	9
	%	88.9%	11.1%	100.0%
DM2+W5	n	3	3	6
	%	50.0%	50.0%	100.0%

Valor p=0.000

Sobre la relación de las tres herramientas utilizadas en este estudio, Takahara *et al.* (2014) reportó en su estudio una relación entre las sensaciones vibratorias mediante diapasón con las sensaciones de presión mediante monofilamento (Takahara *et al.*, 2014), mientras que Guney *et al.* (2015) reportó que durante la DM2 se presentan alteraciones estructurales y funcionales asociadas con la enfermedad que afectan de manera negativa las características mecánicas y biológicas del tendón de Aquiles (Guney *et al.*, 2015).

Se puede concluir que las pruebas de sensibilidad empleadas en este estudio (monofilamento, diapasón y martillo neurológico) no muestran una clara asociación con la progresión de PD en individuos con DM2. Estos resultados son contrarios a lo esperado ya que Rinkel *et al* (2017) indicó que la evaluación de sensibilidad, haciendo uso de mediante diferentes herramientas, debe ser considerado como prioritario en la práctica clínica ya que cada una evalúa diferentes funciones somato sensoriales que se van perdiendo progresivamente durante la DM2 (Rinkel *et al.*,

2017), siendo que Jhon y Pfeifer (2008) indicaron que la implementación de iniciativas preventivas podría reducir la tasa de amputación de miembros inferiores entre el 49 y 85%.

7.5. Análisis metabólico

Debido a las alteraciones metabólicas observadas en los individuos con estadios avanzados de PD (DM2+W4 y DM2+W5), y a que el objetivo del presente estudio es la identificación de biomarcadores para el diagnóstico temprano del PD, se decidió realizar el perfil metabólico de muestras séricas obtenidas de pacientes sin DM tipo 2 (SinDM2) y con DM tipo 2 sin lesiones físicas (DM2+W0) y con estadios tempranos de PD (DM2+W1, DM2+W2 y DM2+W3).

7.5.1. Análisis multivariado

Tras el pre-procesamiento correspondiente de los datos crudos obtenidos del perfil metabólico, se procedió a realizar el análisis multivariado correspondiente, por lo que este estudio se define como un análisis metabólico no dirigido. Se realizó un análisis multivariado supervisado por medio de PLS-DA (Véase Figura 24). Es importante destacar que el perfil metabólico de metabolitos polares de muestras séricas permitió la discriminación entre los individuos del grupo SinDM2 (GNR) y los individuos con DM2 y estadios tempranos de PD (GW1, GW2 y GW3); sin embargo, no se observa discriminación entre los individuos aparentemente sanos (GNR) y los individuos con DM2 sin lesiones físicas (GDM) ni entre éstos últimos y los individuos con estadios tempranos de PD (GW1, GW2 y GW3).

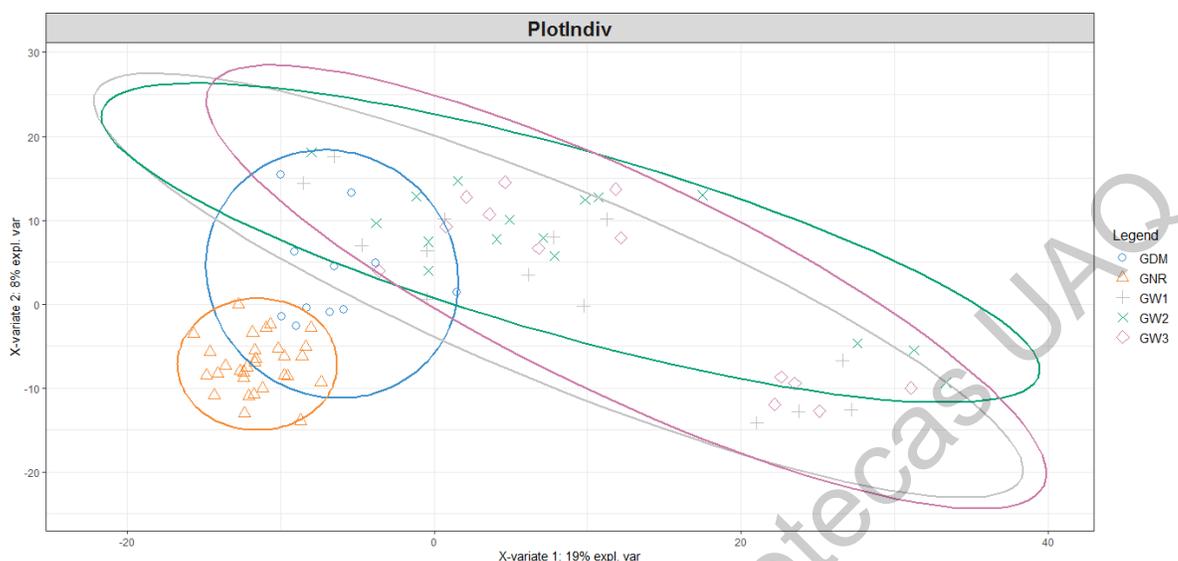


Figura 24. Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) del perfil metabólico de los grupos de estudio

Por lo tanto, se puede concluir que el perfil metabólico realizado en este estudio no permitió una discriminación completa entre todos los grupos de estudio. Sin embargo, se observa una tendencia clara en la presencia de perfiles metabólicos distintos entre individuos sin DM2, individuos con DM2 sin lesiones físicas en extremidades inferiores e individuos con DM2 con PD en estadios tempranos (Wagner 1, 2 y 3); sin observar diferencias en los perfiles metabólicos con respecto a la progresión del PD.

Con el fin de identificar los metabolitos asociados a la discriminación observada, se realizó la obtención de las diez variables con mayor VIP score (Véase Cuadro 12)

Cuadro 12. Diez variables con mayor VIP score obtenidas del análisis multivariado por PLS-DA

Compuesto	Tiempo de retención, masa/carga	VIP score
Compuesto_1	X22.05_1013.4176m.z	2.409588372
Compuesto_2	X22.07_895.1519m.z	2.423979658
Compuesto_3	X22.07_1065.4303m.z	2.425922195
Compuesto_4	X22.07_1036.4533m.z	2.455790053

Compuesto_5	X22.05_963.1376m.z	2.474503168
Compuesto_6	X22.07_866.1744m.z	2.500806504
Compuesto_7	X5.88_510.3114m.z	2.517865845
Compuesto_8	X20.46_886.3930n	2.529457651
Compuesto_9	X22.07_882.1473m.z	2.572660336
Compuesto_10	X20.46_451.1625m.z	2.632039120

n: masa neutra, m.z: relación masa/carga.

7.5.1.1. Compuesto_1

Este compuesto fue identificado tentativamente como el triglicérido TG(20:2/22:3/22:3), con la fórmula molecular $C_{67}H_{114}O_6$. Se encuentra en la categoría de glicerolípidos, en la subclase de triacilgliceroles (Véase Figura 25). Se observó que los individuos sin DM2 presentaron niveles más elevados de estos compuestos, seguidos por individuos con DM2 sin lesiones físicas y finalmente individuos con DM2 con PD en estadios W1, W2 y W3; sin observar diferencias significativas entre estos últimos (Véase Figura 26).

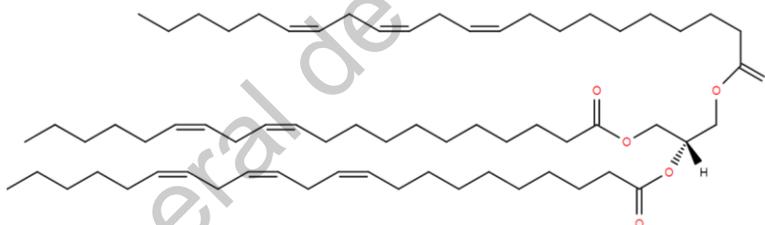


Figura 25. Estructura tentativa del compuesto_1

Es importante mencionar que la tendencia observada con el metabolito tentativamente identificado como el TG (20:2/22:3/22:3) es distinta a la observada para triglicéridos séricos (Véase Figura 23). El triglicérido identificado como de interés en este estudio, u otro triglicérido, no ha sido previamente propuesto como candidato a biomarcador para el PD.

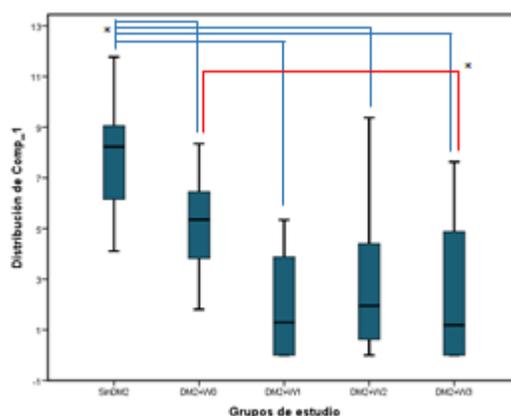


Figura 26. Abundancia del compuesto_1 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos .

7.5.1.2. Compuesto_2

Este compuesto fue identificado tentativamente como el fosfatidilinositol PI(18:0/22:6), con la fórmula molecular $C_{49}H_{85}O_{12}P$. . Esta molécula se encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos, en la clase principal de glicerofosfoinositoles y la subclase 1-alkilo, 2-acilglicerofosfoinositoles (Véase Figura 27).

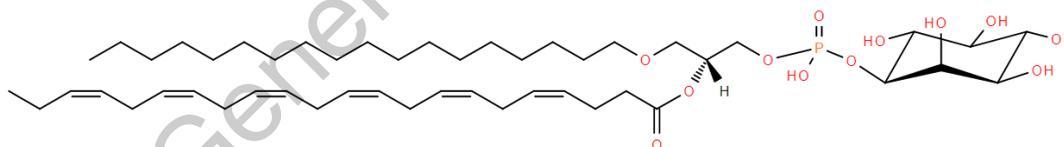


Figura 27. Estructura tentativa del compuesto_2

No se ha asociado previamente el fosfolípido PI(O-18:0/22:6) con el desarrollo o la progresión del PD. Sin embargo, Cipriani-Thorne y Quintanilla (2010) reportaron una asociación entre los fosfoinositoles y la resistencia a la insulina. Cuando la insulina se une con su receptor de membrana se activa el sustrato del receptor de insulina (IRS), promoviendo su fosforilación y dando inicio a una autocatálisis que incluye la activación del sistema de los fosfoinositoles que generan los segundos mensajeros para favorecer la translocación del transportador de glucosa-4 (GLUT4) a la membrana celular.

Existen diversos promotores asociados al desarrollo de resistencia a la insulina, entre los que destacan los ácidos grasos y diacilgliceroles, los cuales promueven la activación de la proteína cinasa C (PKC), que promueve la fosforilación de los residuos de serina del ISR1, impidiendo la fosforilación de residuos de tirosina, lo que inhibe la actividad de la fosfoinositol kinasa, suprimiendo la supresión del transporte de glucosa inducida por la insulina. Por lo tanto, existe una asociación directa entre la acumulación de PI con el desarrollo de resistencia a la insulina (Cipriani-Thorne y Quintanilla, 2010).

En este estudio se observó que los individuos con DM2 presentaron niveles más bajos de PI(O-18:0/22:6) en comparación con los individuos sin DM2, siendo que los individuos con estadios tempranos de PD (W1, W2 y W3) presentaron valores significativamente más bajos que los individuos con DM2 sin lesiones visuales en las extremidades inferiores (DM2+W0). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los individuos de los grupos SinDM2 y DM2+W0 (Véase Figura 28).

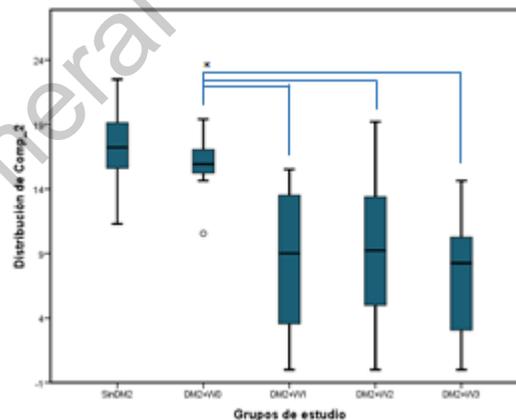


Figura 28. Abundancia del compuesto_2 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos .

7.5.1.3. Compuesto_3

Este compuesto fue tentativamente identificado como la fosfatidiletanolamina PE(16:0/18:1). Esta molécula se encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos, en la clase principal de glicerofosfoetanolaminas y subclase diacilglicerolfosfoetanolaminas (Véase Figura 29).

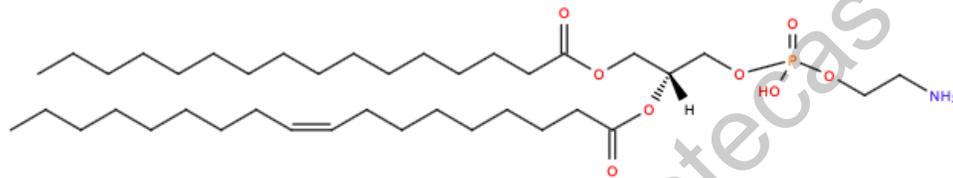


Figura 29. Estructura tentativa del compuesto_3

No se ha asociado previamente el fosfolípido PE(16:0/18:1) con el desarrollo o la progresión del PD. Los glicerofosfolípidos componen principalmente las membranas neuronales y se ha reportado que participan en la patogénesis y progresión de la ND, ya que individuos con DM2 y ND presentan una metilación diferencial de genes implicados en la vía del metabolismo de glicerofosfolípidos, particularmente la fosfolipasa A2 (involucrada en trastornos metabólicos mediados por inflamación con DM2 y obesidad, necesaria para el crecimiento de neutrinas en el sistema nervioso periférico e implicada en la descomposición de mielina) y la fosfatidilserina descarboxilasa (enzima catalizadora de la reacción fosfatidil serina a fosfatidiletanolamina, asociada con neuro degeneración). Dichas modificaciones epigenéticas están asociadas con alteraciones del sistema nervioso, orientación del axón, metabolismo de los glicerofosfolípidos y señalización de MAPK, vías metabólicas involucradas en la fisiopatología de la ND (Guo *et al.*, 2019).

De manera interesante, el PE(16:0/18:1) se encontró en niveles más altos en los individuos del grupo SinDM2, seguido de los individuos con DM2 sin lesiones físicas en los pies (DM2+W0), observándose diferencias significativas entre estos grupos. Asimismo, se observaron diferencias significativas entre los individuos del grupo DM2+W0 y los individuos con estadios tempranos de PD (DM2+W1, DM2+W2 y

DM2+W3), sin observarse diferencias entre estos últimos. Por lo tanto, este metabolito podría ser considerado un candidato a biomarcador para el diagnóstico oportuno del PD.

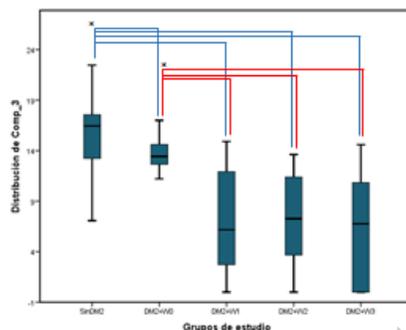


Figura 30. Abundancia del compuesto_3 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.4. Compuesto_4

No se logró la identificación de este compuesto con la información obtenida de su espectro de masas ni en comparación con librerías como LipidMaps y Metlin. Con respecto a su distribución por grupos (Véase Figura 31), se observa una tendencia similar a la presentada en el compuesto_3 (Véase Figura 30), en donde se observan diferencias significativas entre los grupos control (SinDM2 y DM2+W0) y los grupos con PD (DM2+W1, DM2+W2 y DM2+W3). Por lo que se continuará trabajando con su identificación.

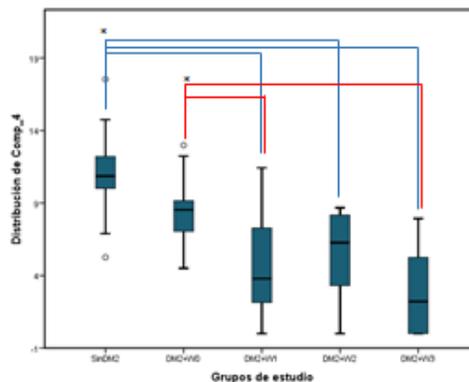


Figura 31. Abundancia del compuesto_4 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.5. Compuesto_5

Este compuesto fue tentativamente identificado como el fosfatidilinositol PI(22:1/22:6), con la fórmula molecular $C_{53}H_{89}O_{13}P$. Esta molécula se encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos en la clase principal de glicerofosfoinositoles y en la subclase de diacilglicerofosfoinositoles (Véase Figura 32). Este es el segundo fosfatidilinositol identificado como metabolito de interés asociado al desarrollo de PD en este estudio, ya que el compuesto_2 fue identificado como PI(18:0/22:6), presentando la misma tendencia en cuanto a los grupos de estudio (Véase Figura 33).

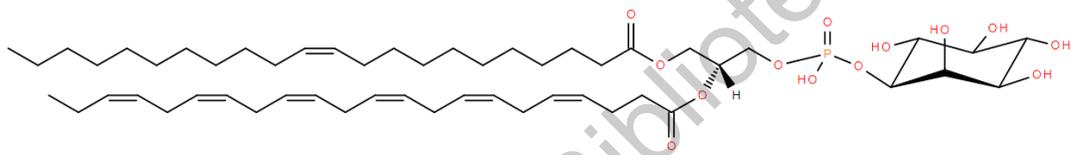


Figura 32. Estructura tentativa del compuesto_5

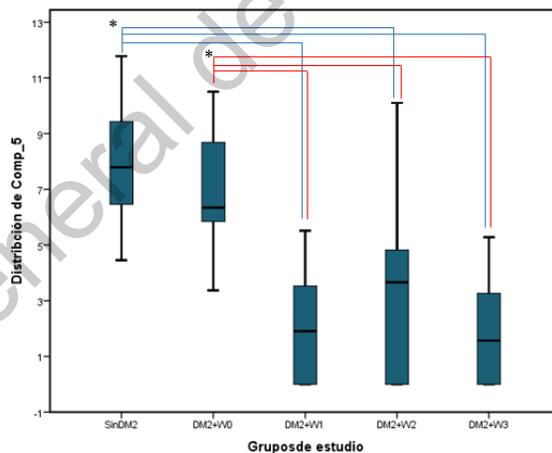


Figura 33. Abundancia del compuesto_5 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.6. Compuesto_6

Este compuesto fue identificado como la fosfatidilcolina PC(20:1/22:2) con la fórmula molecular $C_{50}H_{94}NO_8P$. Esta molécula se encuentra en la categoría de

glicerofosfolípidos en la clase principal de glicerofosfocolinas y en la subclase de diacilglicerofosfocolinas (Véase Figura 34).

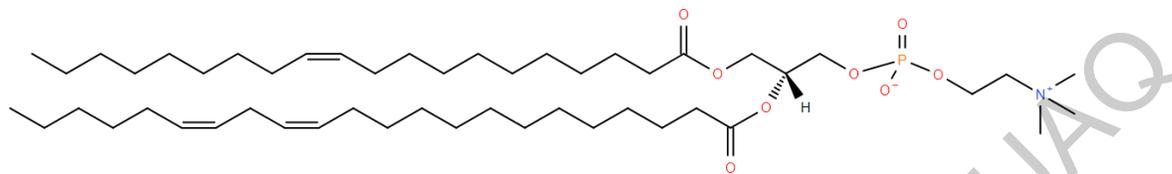


Figura 34. Estructura tentativa del compuesto_6

Se observó la misma tendencia antes descrita con respecto a los grupos de estudio, en donde se observa que los individuos con PD (DM2+W1, DM2+W2 y DM2+W3) presentan niveles más bajos de este metabolito en comparación con los individuos con lesiones visibles (DM2+W0), los cuales a su vez presentan niveles más bajos de PC(20:1/22:2) en comparación con los individuos sin DM2 (Véase Figura 35).

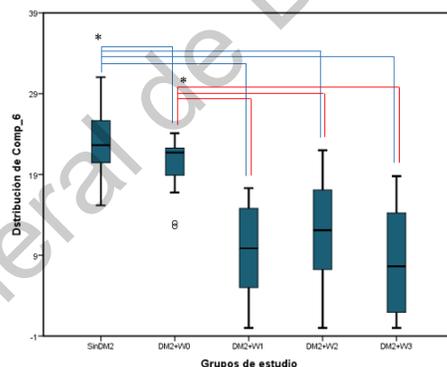


Figura 35. Abundancia del compuesto_6 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

Las glicerofosfocolinas han sido relacionadas con la resistencia a la insulina en células hepáticas. Kahle *et al.* (2015) reportó que la resistencia a la insulina hepática está asociada con una disminución en los niveles de distintos lípidos, incluyendo acilcarnitinas, lisofosfatidilcolinas y glicerofosfocolinas.

7.5.1.7. Compuesto_7

Este compuesto fue identificado como la lisofostadidilserina PS(O-18:0/0:0), con la fórmula molecular $C_{24}H_{50}NO_8P$. Esta molécula se encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos en la clase principal de glicerofosfoserinas y en la subclase de monoalquilglicerofosfoserinas (Véase Figura 36). Es importante destacar que no se ha reportado una asociación entre las fosfatidilserinas o lisofosfatidilserinas y el desarrollo de ND o PD.

En la población de este estudio, se observó la misma tendencia antes descrita para los otros fosfolípidos identificados como potenciales candidatos a biomarcador, en donde los individuos con PD diagnóstico por medio de la escala de Wagner presentaron los niveles más bajos, sin observarse una asociación con la progresión del PD (Véase Figura 37).

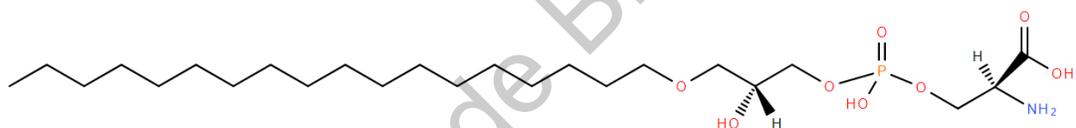


Figura 36. Estructura tentativa del compuesto_7

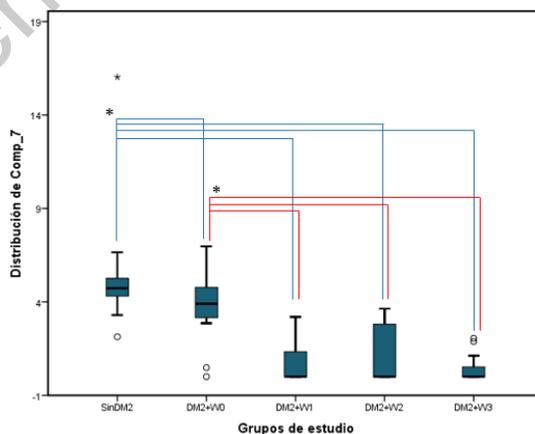


Figura 37. Abundancia del compuesto_7 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.8. Compuesto_8

Este compuesto fue tentativamente identificado como la fosfatidilcolina PC(22:1/22:6), con la fórmula molecular $C_{52}H_{90}NO_8P$. Esta molécula se encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos en la clase principal de glicerofosfocolinas y en la subclase de diacilglicerofosfocolinas (Véase Figura 38).

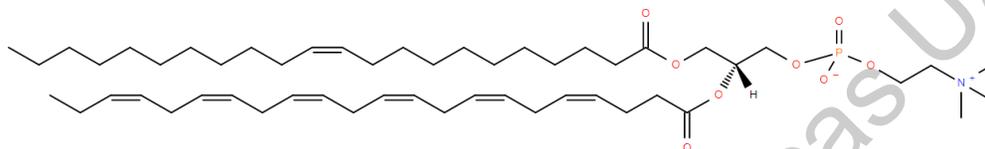


Figura 38. Estructura tentativa del compuesto_8

Este es la segunda fosfatidilcolina identificada como candidata a biomarcador de PD en este estudio (compuesto_6). Sin embargo, se observan ligeras diferencias en la distribución de los compuestos en los grupos de estudio. La PC(22:1/22:6) (compuesto_8) fue encontrada en niveles más altos en las muestras séricas de los individuos sin DM2 en comparación con todos los individuos con DM2; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los individuos sin lesiones visibles en los pies (DM2+W0) y aquellos con lesiones visibles (DM2+W1, DM2+W2 y DM2+W3) (Véase Figura 39). Estos resultados sugieren que este compuesto está asociado con el desarrollo de DM2 y no en sí con el desarrollo de PD.

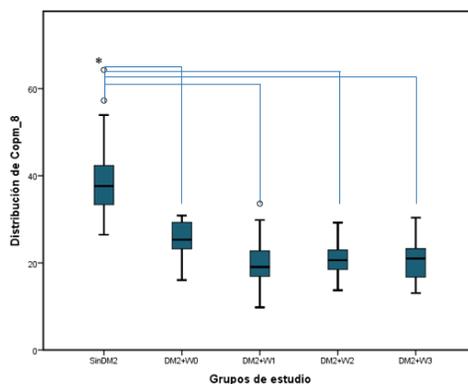


Figura 39. Abundancia del compuesto_8 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.9. Compuesto_9

Este compuesto fue tentativamente identificado como el triglicérido TG(18:0/18:2/18:2) con la fórmula molecular $C_{57}H_{102}O_6$. Este compuesto, al igual que el compuesto_1 identificado en este estudio [TG(20:2/22:3/22:3)] se encuentran en la categoría de glicerolipídeos, en la clase principal de triadilgliceroles y en la subclase de triacilgliceroles (Véase Figura 40).

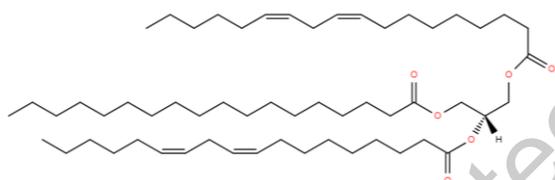


Figura 40. Estructura tentativa del compuesto_9

Es importante destacar, que ambos triglicéridos identificados como candidatos a biomarcadores de PD presentaron la misma distribución entre los grupos de estudio (Véase Figuras 26 y 41), tendencia diferente a la observada en los niveles séricos de triglicéridos (Véase Figura 23). Sin embargo, no se ha reportado la asociación de los triglicéridos específicos identificados en este estudio [TG(20:2/22:3/22:3) y TG(18:0/18:2/18:2)] con el desarrollo de DM2, ND o PD.

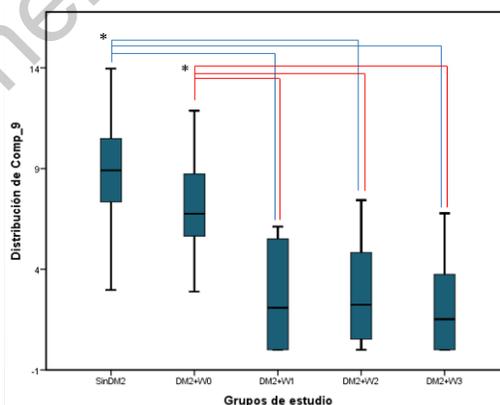


Figura 41. Abundancia del compuesto_9 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

7.5.1.10. Compuesto_10

Este compuesto fue tentativamente identificado como la lisofosfatidiletanolamina LisoPE(16:1/0:0) con la fórmula molecular $C_{21}H_{42}NO_7P$, encuentra en la categoría de glicerofosfolípidos, en la clase principal de glicerofosfoetanolaminas y en la subclase de monoacilglicerofosfoetanolaminas (Véase Figura 42).

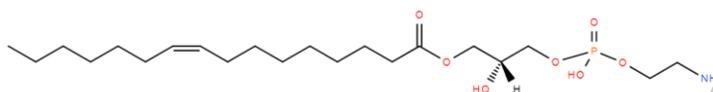


Figura 42. Estructura tentativa del compuesto_10

A diferencia de los otros 9 compuestos identificados como candidatos a biomarcador para el desarrollo de PD, el compuesto_10 [LisoPE(16:1/0:0)] fue encontrado en niveles más altos en los individuos con DM2 y con lesiones visibles de PD (DM2+W1, DM2+W2 y DM2+W3), seguido por los individuos con DM2 sin lesiones visibles en los pies (DM2+W0) y por último por los individuos sin DM2. Al igual que con los otros metabolitos de interés, no se observaron diferencias significativas entre los individuos con PD en los estadios W1, W2 y W3 (Véase Figura 43).

La implicación de las lisofosfatidiletanolaminas en la etiología de la DM2, la ND o el PD no ha sido elucidado. Young-Ha *et al.* (2011) reportó que individuos con DM2 presentaron niveles elevados de LisoPE(18:2) y LisoPE(22:6), tendencia similar a la observada en este estudio con la LisoPE(16:1); mientras que dichos autores reportaron niveles disminuidos de LisoPE(18:1).

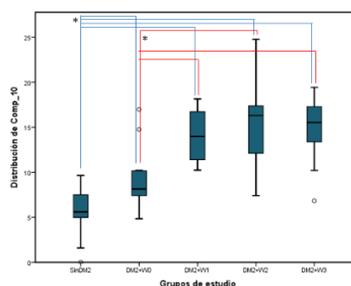


Figura 43. Abundancia del compuesto_10 en los diferentes grupos de estudio

Las líneas indican diferencia significativa entre grupos.

8. CONCLUSIONES

El desarrollo de PD en individuos con DM tipo 2 no fue asociado con un descontrol metabólico de la glucosa, ya que no se observó una asociación directa con los niveles séricos de glucosa o hemoglobina glicada. Sin embargo, el desarrollo de PD fue asociado con la presencia de disfunción renal, por lo que esta última puede ser considerada como una comorbilidad, siendo que ambas son consideradas complicaciones vasculares de la DM tipo 2. Por otro lado, los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las pruebas de sensibilidad (monofilamento, diapasón y martillo neurológico) no permiten el diagnóstico oportuno de PD en individuos con DM tipo 2, ya que la mayoría de los individuos con DM tipo 2 sin lesiones visibles en los pies (Wagner 0) no reportaron puntos de insensibilidad.

El análisis metabólico sérico permitió una ligera discriminación entre los individuos sin DM tipo 2; los individuos con DM tipo 2 sin lesiones visibles en los pies (Wagner 0); y los individuos con DM tipo 2 con estadios temprano de PD (Wagner 1, 2 y 3). Se propusieron diez metabolitos como candidatos a biomarcadores, de los cuales dos fueron identificados como triglicéridos y siete como fosfolípidos, lo que sugiere la implicación de alteraciones en el metabolismo de lípidos asociadas con el desarrollo de PD. Sin embargo, es necesario profundizar en los resultados encontrados para entender la implicación de dichos lípidos en la fisiopatología del PD.

Finalmente, el análisis metabólico no logró discriminar entre los individuos con los distintos estadios de PD. Por lo tanto, los metabolitos identificados como de interés en este estudio pueden ser propuestos como candidatos a biomarcador para el diagnóstico temprano de PD más no para el monitoreo de la progresión de la enfermedad.

9. REFERENCIAS

Adler, A. I., Boyko, E. J., Ahroni, J. H., & Smith, D. G. (1999). Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy, and foot ulcers. *Diabetes care*, 22(7), 1029-1035.

American Diabetes Association. (2018a). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes Care*, 41(Supplement 1), S13-S27.

ADA American Diabetes Association. (2018b) Microvascular complications and foot care: standards of medical care in Diabetes 2018. *Diabetes Care*. 41(1), S105-S118.

Akha, O., Kashi, Z., & Makhloogh, A. (2010). Correlation between amputation of diabetic foot and nephropathy. *Iranian journal of kidney diseases*, 4(1), 27.

AL-Shammaree, S. A. W., Abu-ALKaseem, B. A., & Salman, I. N. (2017). Procalcitonin levels and other biochemical parameters in patients with or without diabetic foot complications. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 22.

Alexiadou, K., & Doupis, J. (2012). Management of diabetic foot ulcers. *Diabetes Therapy*, 3(1), 4.

Álvarez, C. I. (2005). Rol del Tratamiento Endovascular en los Pacientes con Pie Diabético. *Cardiología Intervencionista* 1(30).

Anderson, N. L., & Anderson, N. G. (1998). Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis*, 19(11), 1853-1861.

Apelqvist, J., Bakker, K., Van Houtum, W. H., Nabuurs-Franssen, M. H., & Schaper, N. C. (2017). International consensus and practical guidelines on the management and the prevention of the diabetic foot. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 16(S1), S84-S92.

Arboleya-Casanova, H., & Morales-Andrade, E. (2008). Epidemiología del pie diabético: base de datos de la CONAMED. *Revista CONAMED*, 13(1), 15-23.

Atosona, A., & Larbie, C. (2019). Prevalence and Determinants of Diabetic Foot Ulcers and Lower Extremity Amputations in Three Selected Tertiary Hospitals in Ghana. *Journal of diabetes research*, 2019.

Baker, K. (2001). El siguiente paso. El pie diabético: costes, prevención y políticas futuras. *Diabetes Voice*, 46(3)

Bamanikar, S. A., Bamanikar, A. A., & Arora, A. (2016). Study of Serum urea and Creatinine in Diabetic and nondiabetic patients in a tertiary teaching hospital. *The Journal of Medical Research*, 2(1), 12-15.

Barabási, A. L. (2009). Scale-free networks: a decade and beyond. *science*, 325(5939), 412-413.

Barallobre-Barreiro, J., Chung, Y. L., & Mayr, M. (2013). La proteómica y la metabolómica: los mecanismos de la enfermedad cardiovascular y el descubrimiento de biomarcadores. *Revista Española de Cardiología*, 66(8), 657-661.

Bernal Ruíz, M. L. (2015). La era de las ciencias ómicas. Academia de Farmacia del Reino de Aragón. Zaragoza.

Bikramjit, P., Raveender, N., & Sudipta, P. (2017). The importance of HbA1C and erythrocyte sedimentation rate as prognostic factors in predicting the outcome of diabetic foot ulcer disease. *International Journal of Advances in Medicine*, 4(1), 137.

Birke, J. A., & Sims, D. S. (1986). Plantar sensory threshold in the ulcerative foot. *Leprosy review*, 57(3), 261-267.

Blanes, J. I., Clará, A., Lozano, F., Alcalá, D., Doiz, E., Merino, R., & Sánchez, J. G. (2012). Documento de consenso sobre el tratamiento de las infecciones en el pie del diabético. *Angiología*, 64(1), 31-59.

Bortoletto, M. S. S., Haddad, M. D. C. L., & Karino, M. E. (2009). Pé diabético, uma avaliação sistematizada. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, 13(1).

Boulton, A. J. M. (1996). The pathogenesis of diabetic foot problems: an overview. *Diabetic Medicine*, 13, S12-S16.

Boulton, A. J. M. (1997). Foot problems in patients with diabetes mellitus. *Text book of diabetes mellitus*.

Boulton, A., Armstrong, D., Albert, S., Frykberg, R., Hellman, R., Kirkman, M. & Sheehan, P. (2008). Comprehensive foot examination and risk assessment. *Endocrine Practice*, 14(5), 576-583

Bracho-Nava, M., StepeNka-Alvarez, V., Sindas-VillaSMil, M., RivaS de CASAL, Y., Bozo de González, M., & Duran-Mojica, A. (2015). Hemoglobina glicosilada o Hemoglobina glicada, ¿cuál de las dos?. *Saber*, 27(4), 521-529.

Brennan, T. A. (2000). The Institute of Medicine report on medical errors—could it do harm?

Cáceres, JAG. (2012). Test del monofilamento 5.07 de Semmes-Weinstein en la exploracion sensorial. *Portales Médicos*, 1-9.

Cardona, F., Rojo-Martínez, G., de la Cruz Almaraz, M., Soriguer, F., García-Fuentes, E., & Tinahones, F. J. (2009). El ácido úrico es un predictor de desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en la población general. *Endocrinología y Nutrición*, 56(2), 66-70.

Castillo, R., Antonio, J., López, F., & Tirado, C. (2014). Guía de práctica clínica en el pie diabético, 10(2), 1–17. Chadwick, P., Edmonds, M., McCardle, J., &

Armstrong, D. (2013). Best practice guidelines: Wound management in diabetic foot ulcers. *Wounds International*.

Chinenye, S., Uloko, A. E., Ogbera, A. O., Ofoegbu, E. N., Fasanmade, O. A., Fasanmade, A. A., & Ogbu, O. O. (2012). Profile of Nigerians with diabetes mellitus–Diabcare Nigeria study group (2008): Results of a multicenter study. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(4), 558.

Cipriani-Thorne, E., & Quintanilla, A. (2010). Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina. *Revista Médica Herediana*, 21(3), 160-171.

Corrales, E. M. (2014). Estado actual de la diabetes mellitus en el mundo. *Acta Médica Costarricense ISSN 0001-6012*, 56(2).

Cuevas, I. J. F., Núñez, Z. A. C., Ascencio, R. L., & Vásquez, C. (2018). Detección de neuropatía diabética periférica en adultos mayores de 60 años en el Centro de Salud " México BID" de Colima, México. *Archivos de medicina*, 14(4), 1.

Damas-Casani, V. A., Yovera-Aldana, M., & Seclén Santisteban, S. (2017). Clasificación de pie en riesgo de ulceración según el Sistema IWGDF y factores asociados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de un hospital peruano. *Revista Médica Herediana*, 28(1), 5-12.

Davis, F. M., Kimball, A., Boniakowski, A., & Gallagher, K. (2018). Dysfunctional wound healing in diabetic foot ulcers: new crossroads. *Current diabetes reports*, 18(1), 2.

De Macedo, G. M. C., Nunes, S., & Barreto, T. (2016). Skin disorders in diabetes mellitus: an epidemiology and physiopathology review. *Diabetology & metabolic syndrome*, 8(1), 63.

Denis, F., Malberti, R., & Gonzalez, J. J. (2004). Tendón de Aquiles y deporte. *Archivos de medicina del deporte: revista de la Federación Española de*

Medicina del Deporte y de la Confederación Iberoamericana de Medicina del Deporte, (100), 143.

Dhatariya, K. K., Sin, E. L. P. W. P., Cheng, J. O. S., Li, F. Y. N., Yue, A. W. Y., Gooday, C., & Nunney, I. (2018). The impact of glycaemic variability on wound healing in the diabetic foot—A retrospective study of new ulcers presenting to a specialist multidisciplinary foot clinic. *Diabetes research and clinical practice*, 135, 23-29.

Diabetes Control and Complication Trial Research Group. (1995). The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. *Ann Intern Med*, 122, 561-568.

Edmonds, M. (2007). Can a wound-based severity score for diabetic foot ulcers predict clinical outcome? *Nature Reviews Endocrinology*, 3(3), 208.

El Boghdady, N. A., & Badr, G. A. (2012). Evaluation of oxidative stress markers and vascular risk factors in patients with diabetic peripheral neuropathy. *Cell biochemistry and function*, 30(4), 328-334.

Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Archivos de cardiología de México*, 72(1), 71-84.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2006). *Cuernavaca, México. Instituto Nacional de Salud Pública y Secretaría de Salud*.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012: diseño y cobertura. *Salud pública de México*, 55, S332-S340.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (Ensanut 2016). Informe final de resultados [Internet]. México: *Instituto Nacional de Salud Pública: Secretaría de Salud*; 2016.

Feng, Y., Schlösser, F. J., & Sumpio, B. E. (2009). The Semmes Weinstein monofilament examination as a screening tool for diabetic peripheral neuropathy. *Journal of vascular surgery*, 50(3), 675-682.

García, M., & Durruty, P. (2001). Diabetes en el senescente: complicaciones crónicas. *Medwave*, 1(05).

García-Palmer, R. (1988). Página del Director. *In Anales de Otorrinolaringología Mexicana* (33), 187-188.

García-Palmer, R. (2015). La historia de los diapasones. *In Anales de Otorrinolaringología Mexicana*, 60(3), 207-210.

González, C. P. (2010). Monofilamento de semmes-weinstein. *Diabetes práctica. Actualización y habilidades en Atención Primaria*, 1(1), 8-19.

González-Mayo, G., Triana, L., Smith, M., Tovar, A., Cabello, R., Uceró, C. T., & López, M. (2017). Enzimas antioxidantes y marcadores de peroxidación lipídica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Comunidad y Salud*, 15(2), 1-13.

Gul, A., Basit, A., Ali, S. M., Ahmadani, M. Y., & Miyan, Z. (2006). Role of wound classification in predicting the outcome of diabetic foot ulcer. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 56(10), 444.

Guo, K., Elzinga, S., Eid, S., Figueroa-Romero, C., Hinder, L. M., Pacut, C., & Hur, J. (2019). Genome-wide DNA methylation profiling of human diabetic peripheral neuropathy in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Epigenetics*, 1-14.

Guney, A., Vatansever, F., Karaman, I., Kafadar, I. H., Oner, M., & Turk, C. Y. (2015). Biomechanical properties of Achilles tendon in diabetic vs. non-diabetic patients. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 123(07), 428-432.

Gupta, A., Dwivedi, M., Mahdi, A. A., Khetrpal, C. L., & Bhandari, M. (2012). Broad identification of bacterial type in urinary tract infection using ¹H NMR spectroscopy. *Journal of proteome research*, 11(3), 1844-1854.

International Working Group on the Diabetic Foot. (IWGDF) (2007). *International consensus on the diabetic foot*. International Working Group on the Diabetic Foot.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2018). Características re las defunciones registrdas en México durante 2017. *Comunicado de prensa*, 525(18), 1-60.

Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., & Matthews, D. R. (2015). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 38(1), 140-149.

Jeffcoate, W. J., Macfarlane, R. M., & Fletcher, E. M. (1993). The description and classification of diabetic foot lesions. *Diabetic Medicine*, 10(7), 676-679.

Jiménez-Flores, L. M., Flores-Pérez, E. C., Mares-Álvarez, D. P., Macías-Cervantes, M. H., Ramírez-Emiliano, J., & Pérez-Vázquez, V. (2014). Aportaciones de la proteómica en el estudio de la diabetes. *Gaceta Médica de México*, 150(s1), 88-94.

Jiang, Y., Ran, X., Jia, L., Yang, C., Wang, P., Ma, J., & Yin, H. (2015). Epidemiology of type 2 diabetic foot problems and predictive factors for amputation in China. *The international journal of lower extremity wounds*, 14(1), 19-27.

Jiménez-Flores, L. M., Flores-Pérez, E. C., Mares-Álvarez, D. P., Macías-Cervantes, M. H., Ramírez-Emiliano, J., & Pérez-Vázquez, V. (2014). Aportaciones de la proteómica en el estudio de la diabetes. *Gaceta Médica de México*, 150(s1), 88-94.

Kanbay, M., Jensen, T., Solak, Y., Le, M., Roncal-Jimenez, C., Rivard, C., & Johnson, R. J. (2016). Uric acid in metabolic syndrome: from an innocent bystander to a central player. *European journal of internal medicine*, 29, 3-8.

Kahle, M., Schäfer, A., Seelig, A., Schultheiß, J., Wu, M., Aichler, M., & Hauck, S. M. (2015). High fat diet-induced modifications in membrane lipid and mitochondrial-membrane protein signatures precede the development of hepatic insulin resistance in mice. *Molecular metabolism*, 4(1), 39-50.

Kiani, J., Habibi, Z., Tajziehchi, A., Moghimbeigi, A., Dehghan, A., & Azizkhani, H. (2014). Association between serum uric acid level and diabetic peripheral neuropathy (A case control study). *Caspian journal of internal medicine*, 5(1), 17.

Larsson, J., & Apelqvist, J. (1995). Towards less amputations in diabetic patients: incidence, causes, cost, treatment, and prevention—a review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 66(2), 181-192.

Lavery, L. A., Armstrong, D. G., & Harkless, L. B. (1996). Classification of diabetic foot wounds. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 35(6), 528-531.

Lavery, L. A., Armstrong, D. G., Wunderlich, R. P., Tredwell, J., & Boulton, A. J. (2003). Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-Hispanic whites from a diabetes disease management cohort. *Diabetes care*, 26(5), 1435-1438.

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.

Li, X. H., Guan, L. Y., Lin, H. Y., Wang, S. H., Cao, Y. Q., Jiang, X. Y., & Wang, Y. B. (2016). Fibrinogen: a marker in predicting diabetic foot ulcer severity. *Journal of diabetes research*, 2016.

Lipsky, B. A. (2004). Medical treatment of diabetic foot infections. *Clinical infectious diseases*, 39(Supplement_2), S104-S114.

López-Antuñano, S., & López-Antuñano, F. J. (1998). Diabetes mellitus y lesiones del pie. *Salud pública de Mexico*, 40, 281-292.

Lucoveis, M. D. L. S., Gamba, M. A., Paula, M. A. B. D., & Morita, A. B. P. D. S. (2018). Degree of risk for foot ulcer due to diabetes: nursing assessment. *Revista brasileira de enfermagem*, 71(6), 3041-3047.

Margolis, D. J., & Jeffcoate, W. (2013). Epidemiology of foot ulceration and amputation: can global variation be explained? *Medical Clinics*, 97(5), 791-805.

Martínez-De Jesús, F. R. (2010). A checklist system to score healing progress of diabetic foot ulcers. *The international journal of lower extremity wounds*, 9(2), 74-83.

Martínez-De Jesús, F. R., González-Medina, M. F., Martínez-Mendiola, F. N., Jiménez Godínez, R., & Gutiérrez-Aguilar, P. (2012). Clasificación de San Elián para el seguimiento de las úlceras de pie diabético y su relevancia terapéutica. *Rev Latinoam Cir*, 2(1), 31-7.

Mayfield, J. A., & Sugarman, J. R. (2000). The use of the Semmes-Weinstein monofilament and other threshold tests for preventing foot ulceration and amputation in persons with diabetes. *Journal of Family Practice*, 49(11), S17-S17.

McNeely, M. J., Boyko, E. J., Ahroni, J. H., Stensel, V. L., Reiber, G. E., Smith, D. G., & Pecoraro, R. E. (1995). The independent contributions of diabetic neuropathy and vasculopathy in foot ulceration: How great are the risks?. *Diabetes care*, 18(2), 216-219.

Meng, W., Veluchamy, A., Hébert, H. L., Campbell, A., Colhoun, H. M., & Palmer, C. N. A. (2017). A genome-wide association study suggests that MAPK 14 is associated with diabetic foot ulcers. *British Journal of Dermatology*, 177(6), 1664-1670.

Merza, Z., & Tesfaye, S. (2003). The risk factors for diabetic foot ulceration. *The Foot*, 13(3), 125-129.

Mesa, M. G., Duarte, H. Á., Carretero, J. H., López, M. M. F., & Vilas, M. M. (2011). De Marco Formula effectiveness as an adjunctive therapy to prevent infected ischemic diabetic foot amputation and reduce plasma fibrinogen. *Journal of tissue viability*, 20(2), 67-72.

Molodchik, M., & Molodchik, A. (2013). Leadership Development: A Case of a Russian Business School.

Mueller, M. J. (1996). Identifying patients with diabetes mellitus who are at risk for lower-extremity complications: use of Semmes-Weinstein monofilaments. *Physical Therapy*, 76(1), 68-71.

Muñoz, M., Albarrán Juan, M. E., & Lumbreras Marín, E. M. (2004, September). Revisión sobre el dolor neuropático en el síndrome del pie diabético. In *Anales de Medicina Interna*, 21(9), 50-55. Arán Ediciones, SL.

National Institute for Health and Care Excellence (NICE) (2015). Diabetic Foot Problems: Prevention and Management. London.

Norma Oficial Mexicana (NOM-015-SSA-1994), "Para la prevención, tratamiento y control de la Diabetes Mellitus en la atención primaria, Secretaría de Gobernación, México, Publicado en el Diario Oficial de la Federación el Jueves 18 de Enero del 2001.

Olmos, P. R., Cataland, S., O'Dorisio, T. M., Casey, C. A., Smead, W. L., & Simon, S. R. (1995). The Semmes-Weinstein monofilament as a potential predictor of foot ulceration in patients with noninsulin-dependent diabetes. *The American journal of the medical sciences*, 309(2), 76-82.

Oyibo, S. O., Jude, E. B., Tarawneh, I., Nguyen, H. C., Harkless, L. B., & Boulton, A. J. (2001). A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: the

Wagner and the University of Texas wound classification systems. *Diabetes care*, 24(1), 84-88.

Páez, J. A., Triana, J. D., Ruiz, M. Á., Masmela, K. M., Parada, Y. A., Peña, C. A., & Villamil, E. S. (2016). Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus: visión práctica para el médico de atención primaria. *Revista Cuarzo*, 22(1), 13-38.

Palmer, M. L., & Epler, M. E. (2002). *Fundamentos de Las Técnicas de Evaluación Musculoesquelética* (Bicolor) (Vol. 85). Editorial Paidotribo.

Pandya, D., Nagrajappa, A. K., & Ravi, K. S. (2016). Assessment and correlation of urea and creatinine levels in saliva and serum of patients with chronic kidney disease, diabetes and hypertension—a research study. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 10(10), ZC58.

Papanas, N., Katsiki, N., Papatheodorou, K., Demetriou, M., Papazoglou, D., Gioka, T., & Maltezos, E. (2011). Peripheral neuropathy is associated with increased serum levels of uric acid in type 2 diabetes mellitus. *Angiology*, 62(4), 291-295.

Parial, C. H. R., Islam, M., Ahmad, M., & Kasru, A. (2013). Association of HbA1c, creatinine and lipid profile in patients with diabetic foot ulcer. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 16(11), 1508-11.

Patel, N. R., Rajput, A. S., & Mangukiya, K. K. (2016). Measurement of level of serum albumin, creatinine and blood urea level in Indian patients with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Medical and Health Research*, 45(5.2), 43-4.

Patti, G. J., Yanes, O., Shriver, L. P., Courade, J. P., Tautenhahn, R., Manchester, M., & Siuzdak, G. (2012). Metabolomics implicates altered sphingolipids in chronic pain of neuropathic origin. *Nature chemical biology*, 8(3), 232.

Pereira Despaigne, O. L., Palay Despaigne, M. S., Rodríguez Cascaret, A., Neyra Barros, R. M., Mena, C., & de los Angeles, M. (2015). Hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes mellitus. *Medisan*, 19(4), 555-561.

Pérez, BF. (2009) Epidemiología y fisiopatología de la Diabetes Mellitus tipo 2. *Revista Médica Clínica de las Condes*, 20(5):565-71.

Perkins, B. A., Olaleye, D., Zinman, B., & Bril, V. (2001). Simple screening tests for peripheral neuropathy in the diabetes clinic. *Diabetes care*, 24(2), 250-256.

Praveena, D. L., Uppin, S. M., & Shimikore, S. S. (2018). A one year cross sectional study on role of Wagner's classification in predicting the outcome in diabetic foot ulcer patients. *International Surgery Journal*, 5(7), 2537-2542.

Prieto-Gómez, B., Aguirre-Castañeda, A., Saldaña-Lorenzo, J. A., del Ángel, L., Francisco, J., & Moya-Simarro, A. (2017). Síndrome metabólico y sus complicaciones: el pie diabético. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 60(4), 7-18.

Rao, G. H. (2018). Type-2 Diabetes-Related Chronic Complications. *Clin J Dia Care Control*, 1(2).

Reiber, G. E., Vileikyte, L. O. R. E. T. T. A., Boyko, E. D., Del Aguila, M., Smith, D. G., Lavery, L. A., & Boulton, A. J. (1999). Causal pathways for incident lower-extremity ulcers in patients with diabetes from two settings. *Diabetes care*, 22(1), 157-162.

Rinkel, W. D., Cabezas, M. C., Setyo, J. H., Van Neck, J. W., & Coert, J. H. (2017). Traditional methods versus quantitative sensory testing of the feet at risk: Results from the Rotterdam Diabetic Foot Study. *Plastic and reconstructive surgery*, 139(3), 752e-763e.

Robres, J. G., Ballesteros, J. G., & Villuendas, A. M. (2011). Exploración neurológica y atención primaria. Bloque II: motilidad voluntaria, funciones

corticales superiores y movimientos anómalos. *SEMERGEN-Medicina de Familia*, 37(8), 418-425.

Rodríguez, B. T., Vangaveti, V. N., & Malabu, U. H. (2016). Prevalence and risk factors for diabetic lower limb amputation: a clinic-based case control study. *Journal of diabetes research*, 2016.

Saltzman, C. L., Rashid, R., Hayes, A., Fellner, C., Fitzpatrick, D., Klapach, A., & Hillis, S. L. (2004). 4.5-gram monofilament sensation beneath both first metatarsal heads indicates protective foot sensation in diabetic patients. *JBJS*, 86(4), 717-723.

Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. (1993). Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC).

Shahbazian, H. B., Kamboo, S., Latifi, M., Moghadassi, J., & Javadi, M. (2012). Effectiveness of Semmes-Weinstein monofilament examination for diabetic peripheral neuropathy screening in Ahvaz, Iran. *Life Science Journal*, 9(4), 5506-5510.

Sharma, R., Juyal, D., & Negi, A. (2018). Epidemiology of diabetes mellitus and its recent awareness with use of advance medication. *The Pharma Innovation*, 7(6), 87-88.

Shibu, T. S., Smitha, K. S., Gilsa, E. S., & Ajith, V. L. (2017). Biochemical Profile in Diabetic Foot Ulcer Patients—A Descriptive Study from Kerala. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 16(1), 57-59.

Singh, K., Agrawal, N. K., Gupta, S. K., & Singh, K. (2011). The International Journal of Lower Extremity.

Smith CL. (2004) Pharmacotherapy of Diabetic Foot Ulcers. *J Pharm Prac* 2004; 17:66-74.

Stefano, G. B., Challenger, S., & Kream, R. M. (2016). Hyperglycemia-associated alterations in cellular signaling and dysregulated mitochondrial bioenergetics in human metabolic disorders. *European journal of nutrition*, 55(8), 2339-2345.

Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463.

Surriah, M. H., Al-Imari, A. N. K., Bakkour, A. M., & Al-Asadi, R. R. J. (2019). Predictive value of the risk factors for amputation of lower extremity in patients with diabetic foot in Al-Karama teaching hospital. *International Surgery Journal*, 6(5), 1549-1555.

Takahara, M., Fujiwara, Y., Sakamoto, F., Katakami, N., Matsuoka, T. A., Kaneto, H., & Shimomura, I. (2014). Assessment of vibratory sensation with a tuning fork at different sites in Japanese patients with diabetes mellitus. *Journal of Diabetes Investigation*, 5(1), 90-93.

Vivanco, F., López-Bescós, L., Tuñón, J., & Egido, J. (2003). Proteómica y enfermedad cardiovascular. *Revista española de cardiología*, 56(3), 289-302.

Wagner Jr, F. W. (1981). The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment. *Foot & ankle*, 2(2), 64-122.

Wilkins, M. R., Pasquali, C., Appel, R. D., Ou, K., Golaz, O., Sanchez, J. C. & Williams, K. L. (1996). From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio/technology*, 14(1), 61.

World Health Organization. (WHO). (2004). *International statistical classification of diseases and related health problems* (Vol. 1). World Health Organization.

World Health Organization. (2006). Guidelines for the prevention, management and care of diabetes mellitus.

Yanes, O., Clark, J., Wong, D. M., Patti, G. J., Sánchez-Ruiz, A., Benton, H. P & Siuzdak, G. (2010). Metabolic oxidation regulates embryonic stem cell differentiation. *Nature chemical biology*, 6(6), 411.

Ye, X., Cao, Y., Gao, F., Yang, Q., Zhang, Q., Fu, X., & Xue, Y. (2014). Elevated serum uric acid levels are independent risk factors for diabetic foot ulcer in female Chinese patients with type 2 diabetes. *Journal of diabetes*, 6(1), 42-47.

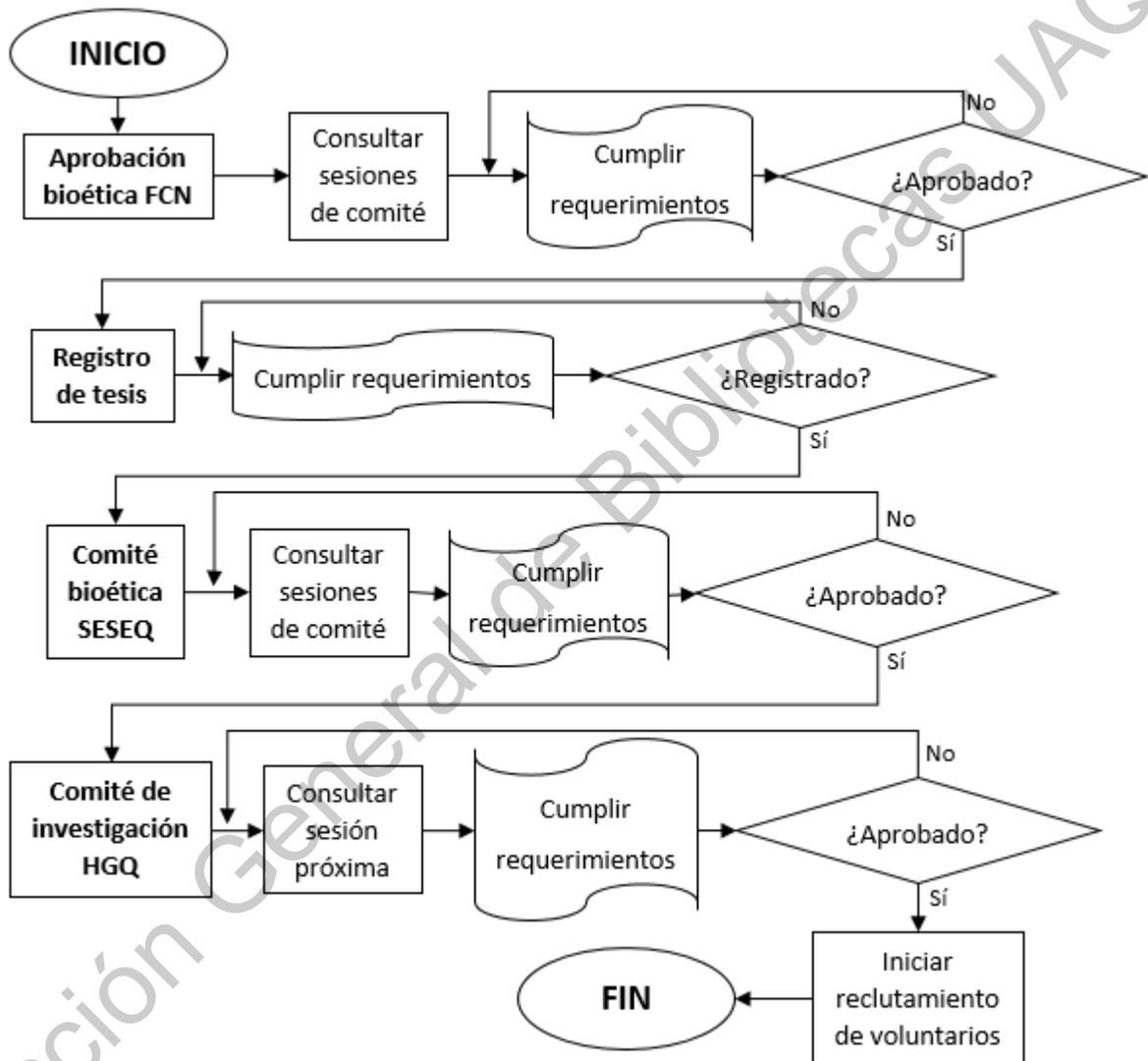
Yesil, S., Akinci, B., Yener, S., Bayraktar, F., Karabay, O., Havitcioglu, H., & Eraslan, S. (2009). Predictors of amputation in diabetics with foot ulcer: single center experience in a large Turkish cohort. *Hormones*, 8(4), 286-295.

Yusof, N. M., Ab Rahman, J., Zulkifly, A. H., Che-Ahmad, A., Khalid, K. A., Sulong, A. F., & Vijayasingham, N. (2015). Predictors of major lower limb amputation among type II diabetic patients admitted for diabetic foot problems. *Singapore medical journal*, 56(11), 626.

Zhang, Q., Yi, N., Liu, S., Zheng, H., Qiao, X., Xiong, Q. & Zhou, L. (2018). Easier operation and similar power of 10 g monofilament test for screening diabetic peripheral neuropathy. *Journal of International Medical Research*, 46(8), 3278-3284.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Diagrama de flujo de los procesos para la aprobación de comités académicos e institucionales; así como el registro.



ANEXO 2. Tríptico de invitación para participación en estudio

DIABETES La **DIABETES MELLITUS** es una enfermedad crónica degenerativa caracterizada por un descontrol en los niveles de glucosa en sanguínea.

Una **DIABETES MELLITUS** mal controlada puede conducir a diversas complicaciones, entre ellas, el **PIE DIABÉTICO**.



El **PIE DIABÉTICO** causa daño a los nervios (neuropatía) y a los vasos sanguíneos (isquemia) generando úlceras y heridas que difícilmente cicatrizan.

El objetivo de este tríptico es invitarlo a participar en una **INVESTIGACIÓN** que tiene como objetivo identificar las diferencias moleculares que hay entre:

- Personas con Diabetes Mellitus.
- Personas con Pie Diabético.
- Personas sin Diabetes Mellitus.

DIRECTORA DE TESIS
Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

INVESTIGADOR
L.N. Ignacio Iván Álvarez Rodríguez

CONTACTO:
044-4428209258
nch.pronut@gmail.com






UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN HUMANA

PIE DIABÉTICO

INVITACIÓN A PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



ESTADÍSTICAS

El Pie Diabético es la segunda causa de amputación de extremidades inferiores.

Según ENSANUT, hubo un aumento en casos de Pie Diabético, de 7.2% en 2012 a 9.1% en 2016.



ENSANUT 2012-2016		
7.2%	Úlceras	9.1%
2%	Amputaciones	5.5%
47.3%	Sensibilidad	41.2%

Hay un aumento en las amputaciones de extremidades inferiores, de 2% a 5.5% en los mismos años.

ES DE VITAL IMPORTANCIA SU DETECCIÓN TEMPRANA.

¿A QUIÉN VA DIRIGIDO?

Hombres y mujeres que cumplan con los siguientes requisitos:

PARA PERSONAS CON DIABETES MELLITUS.

- 45 a 64 años.
- Aceptar ser voluntario.
- Tener diagnóstico médico.
- No tener ninguna complicación.
- No embarazadas ni lactando

• **PARA PERSONAS CON PIE DIABÉTICO.**

- 45 a 64 años.
- Aceptar ser voluntario.
- Tener diagnóstico médico




¿EN QUÉ CONSISTE MI PARTICIPACIÓN?

ETAPA 1.

- Consentimiento informado.
- Elaboración de expediente.
- Cuestionario de datos personales
- Pesaje y medición.

ETAPA 2.

- Toma de muestra.

Acudir en ayunas a la Clínica de Heridas del Hospital General de Querétaro.

Se hará una toma de muestra de sangre de 9 ml.

Se realizará una toma de presión arterial.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA.



ANEXO 3. Carta de consentimiento informado.



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UNA INVESTIGACIÓN CON LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



Fecha _____ ID _____

DIABETES MELLITUS es una enfermedad crónica no transmisible y progresiva caracterizada por un incremento de glucemia desencadenada cuando el páncreas no produce suficiente insulina (hormona que reguladora del nivel de azúcar, o glucosa, en sangre), o cuando el organismo no puede utilizar con eficacia la insulina que produce. Para México la OMS reportó en el año 2016 45,100 muertes por Diabetes Mellitus en personas de 30-69 años y 41,900 personas mayores de 70 años de edad. **COMPLICACIONES** afecta órganos, aparatos y sistemas, entre ellos: aparato cardiovascular, cerebro, riñones, muerte fetal y daño vascular generalizado donde se afectan los nervios periféricos dando como consecuencia pie diabético. **PIE DIABÉTICO** es un trastorno provocado por conjunto de síndromes como la neuropatía e isquemia, generando daño a arterias periféricas que irrigan el pie y daño de los nervios periféricos e infecciones provocando trastornos sensoriales, úlceras de la planta del pie y atrofiaciones musculares; además de una oclusión en las arterias que llevan sangre a los pies produciendo gangrena; es frecuente que las lesiones del pie diabético trascurren sin dolor, agravando la lesión, el riesgo de amputaciones para las personas con Diabetes Mellitus es hasta 15 veces mayor que en personas sin Diabetes Mellitus. **PROTEOMICA Y METABOLÓMICA** son herramientas tecnológicas que generan información de los cambios que acontecen a nivel molecular en el organismo cuando está sometido a condiciones determinadas.

CONSENTIMIENTO El Licenciado en Nutrición Ignacio Iván Álvarez Rodríguez, ha solicitado mi consentimiento para que lleve a cabo en mí una serie de evaluaciones con el fin de obtener muestras que le brindarán información para realizar su proyecto de investigación con el título de

Identificación de un panel de biomarcadores tempranos de Pie Diabético en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2

Dirigido por la Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez y que a su vez colaboran: Dra. C. S. Juana Elizabeth Elton Puente, Dr. Eduardo Castaño Tostado, Dra. Rosalía Reinoso Camacho y el Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez. El fin de esta investigación es, a través de los diferentes procedimientos (que serán mencionados más adelante) poder Identificar biomarcadores de diagnóstico temprano de pie diabético en personas adultas con Diabetes Mellitus tipo 2, esto con el fin de crear una herramienta preventiva para el tratamiento y acompañamiento en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 y que además tiene como fin la realización de tesis para la obtención del grado académico de "Maestría".

- Tener entre 45 y 64 años sin importar sexo.

Además debo pertenecer a uno solo de los siguientes grupos:

- Tener Diabetes Mellitus 2 diagnosticada sin complicaciones (sin complicaciones).
- Tener pie diabético diagnosticado.
- No tener Diabetes Mellitus 2 ni alguna otra enfermedad.

Una vez cumplidos los criterios mencionados podré integrarme a los siguientes procedimientos, en donde se me realizara:

- Elaboración de expediente personal:
 - Se evaluará: Edad, peso, estatura, circunferencia de cintura y de cadera, perfil socio económico, historial clínico personal y hereditario, (en caso de mujeres, antecedentes ginecobstétricos) valoraciones médicas, análisis bioquímicos, frecuencia de consumo de alimentos y recordatorio de 24 horas; además, de una exploración de pie acompañado de personal capacitado en dicha actividad.
 - Yo entiendo sobre las instrucciones que debo respetar: llegar puntual al punto de reunión: brindar la información solicitada, contar con el tiempo solicitado y para la toma de muestra de sangre y medidas antropométricas: ayuno de 8 horas, y respetar el código de vestimenta para realizar las mediciones, que son:
 - Mujeres: Playera de manga corta o top, sin pulseras y/o objetos metálicos, sin coletas en el cabello y sin esmalte en las uñas de los pies.
 - Hombres: Playera de manga corta, sin pulseras y/o objetos metálicos.
 - También comprendo el código de higiene para hombres y mujeres: aseados, sin talcos y sin cremas corporales.
 - Los posibles riesgos que este procedimiento incluye son: cansancio e irritación debido al contacto con herramientas utilizadas en el procedimiento como lo es la cinta metálica para medir cintura y cadera.
- Toma de muestra de sangre:
 - Para llenar esta parte del expediente, procederé a que se me haga una toma de muestra de sangre de 9 ml en dos tubos.
 - Los posibles riesgos que este procedimiento incluye son: posible dolor al contacto con la aguja, irritación de la zona y posible goteo mínimo de sangre.

personas que viven con Diabetes Mellitus, como para la investigación; así mismo, se me ha informado que se me entregará resultado de:

Examen químico sanguíneo de 6 elementos
Análisis de Hemoglobina glicada

Mis datos personales estarán protegidos bajo un número de identificación.

Los resultados de este procedimiento podrán ser publicados, pero mi nombre, identidad y datos clínicos no serán revelados y permanecerán en forma confidencial a menos que estos sean solicitada por ley; además que de ser publicadas se me notificará y solo se usará mi número de identificación.

Mi participación en esta investigación no tiene ningún costo.

Yo me podré retirar de este procedimiento en cualquier momento sin dar razones y sin que ocasione un perjuicio a mi persona, además mi consentimiento está dado voluntariamente sin que haya sido forzado(a) u obligado(a); también me darán una réplica del presente documento para mi uso personal en caso de necesitarlo; todo esto abalado por mi nombre completo y mi firma.

Cualquier pregunta que yo quiera hacer en relación a mi participación en estos procedimientos ó duda relacionada con el mismo, deberá ser contestada por: **Ignacio Iván Álvarez Rodríguez al cual puedo contactar al 044. 44.28.20.92.58\ nch.pronut@gmail.com,** o también puedo hacerlo con la directora de tesis.

Nombre y firma del voluntario: _____

Nombre y firma del testigo: _____

DIRECTORA DE TESIS

INVESTIGADOR

ANEXO 4. Historia clínica de SinDM2.

HISTORIA CLÍNICA SUJETO DE ESTUDIO SIN DIABETES MELLITUS TIPO 2

DATOS PERSONALES

ID _____ Fecha _____ Hora inicio _____ Hora de término _____ Nombre _____
 Dirección _____ Referencia _____ Fecha nacimiento _____
 Edad _____ Procedencia _____ Edo civil _____ Hijos _____ Escolaridad _____ Ocupación _____

PERFIL SOCIO ECONÓMICO

Casa propia _____ #Familias en casa _____ #Personas en casa _____ #De personas que dependen económicamente _____ #Personas en casa que trabajan _____ #Personas en casa que estudian _____ #Adultos _____ #Niños _____ #Adultos mayores _____ Agua _____ Luz _____
 #Focos _____ Drenaje _____ Piso firme _____ Paredes en acabados _____ Material del techo _____
 Microondas _____ #Habitaciones _____ #Baños completos _____ #TV _____ Sistema de TV de paga _____ #Computadoras _____ Internet _____
 Teléfono fijo _____ #Celulares _____ Dispositivos electrónicos [especificar] _____
 Como calienta sus alimentos _____ Boiler de gas _____ #Carros _____ #Motocicletas _____
 #Bicicletas _____ Asegurado _____ Cual _____ Ayuda económica gubernamental _____ Cual _____

PERFIL ANTROPOMÉTRICO

PRUEBA	FECHA	Captura 1	Captura 2	Captura 3
	HORA			
MEDIDAS	Peso			
	Talla			
	TA			
	Cintura			
	Cadera			
RESULTADOS	IMC			
	ICC			

HISTORIAL CLÍNICO

ANTECEDENTES GINECOBSTRÉCTICOS	
Menarca _____ FUM _____ Ritmo _____ #Gestaciones _____ Parto _____ Cesárea _____ Aborto _____ Diabetes gestacional _____	
Anticonceptivos hormonales _____ Menopausia _____ Tx _____	Ultima consulta con ginecólogo _____ Papanicolaou _____

APH _____ APP _____
 Alergias _____ Intolerancias _____ Cx anteriores _____
 Medicamento _____

VALORACIONES MEDICAS\AUTOMEDICACION\TX ALTERNATIVO

INTERCONSULTAS - PODÓLOGO

¿Ha ido con un podólogo? ____ Cuantas veces al año ____ Fecha de última consulta ____ Cuidados podológicos ____
 _____ Cuidados generales en los pies ____
 _____ Tratamiento podológico específico actual [uñas, piel] ____
 _____ Valoraciones podológicas totales ____

Cx anteriores en pie _____

INTERCONSULTAS

Tx médico actual _____
 OFTALMÓLOGO ____ Primer visita ____ Dx ____ Última visita ____ Dx ____
 FONDO DE OJO ____ Fecha ____ Dx ____ Miopía ____ Astigmatismo ____ Hipermetropía ____
 INTERCONSULTAS CON ALGÚN OTRO PROFESIONAL O NO PROFESIONAL DE LA SALUD ____ Cual ____
 Desde cuando ____ Fecha de inicio ____ Última fecha ____
 AUTOMEDICACIÓN ____ Descripción ____ Desde cuando ____
 TX ALTERNATIVO ____ Descripción ____ Desde cuando ____

ANÁLISIS CLÍNICOS [MÁXIMO 2 SEMANAS ANTES]

FECHA	FECHA
Glucosa	Glucosa
Urea	Urea
Creatinina	Creatinina
Ácido úrico	Ácido úrico
Colesterol	Colesterol
Triglicéridos	Triglicéridos

Primer HbA1C ____	Fecha ____
Ultima HbA1C ____	Fecha ____
Toma de destroxis al momento ____	
Hora de último alimento ____	
HbA1C actualizada ____	Fecha ____

FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

Pollo __\7 Res __\7 Pescado __\7 Cerdo __\7 Huevo __\7 Queso __\7 Leche __\7 Frijoles __\7 Tortillas __\7 Arroz __\7 Pan __\7
 Pastas __\7 Verd __\7 Frutas __\7 Embutidos __\7 Enlatados __\7 Refresco __\7 Golosinas __\7 OH __\7 Tabaco __\7 Cafeína __\7
 Actividad física __\7 Descripción de tipo de actividad ____ Horario ____
 _____ Complementos dietarios ____
 Otros ____ Agua ____ Endulzantes artificiales __\7 Cual ____
 Cantidad _____

RECORDATORIO DE 24 HORAS

Litros de agua al día _____

Comidas		Grupos	Ración
Hr		Cereales	
		Leguminosas	
Hr		Carne	
		Verdura	
Hr		Fruta	
		Leche	
Hr		Grasa	
		Azúcar	
Hr			

OBSERVACIONES

CONTACTO CELULAR _____ CONTACTO E-MAIL _____

Estoy de acuerdo en que se use mi información para la realización de esta investigación Sí _____ No _____

NOMBRE Y FIRMA DE SUJETO DE ESTUDIO _____

ANEXO 5. Historia clínica de DM2+W0, DM2+W1, DM2+W2, DM2+W3, DM2+W4, DM2+W5

HISTORIA CLÍNICA SUJETO DE ESTUDIO CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y PIE DIABÉTICO

DATOS PERSONALES

ID _____ Fecha _____ Hora inicio _____ Hora de término _____ Nombre _____
 Dirección _____ Referencia _____ Fecha nacimiento _____
 Edad ____ Procedencia _____ Edo civil _____ Hijos ____ Escolaridad _____ Ocupación _____

PERFIL SOCIO ECONÓMICO

Casa propia ____ #Familias en casa ____ #Personas en casa ____ #De personas que dependen económicamente ____ #Personas en casa que trabajan ____ #Personas en casa que estudian ____ #Adultos ____ #Niños ____ #Adultos mayores ____ Agua ____ Luz ____ #Focos ____ Drenaje ____ Piso firme ____ Paredes en acabados _____ Material del techo _____
 Microondas ____ #Habitaciones ____ #Baños completos ____ #TV ____ Sistema de TV de paga ____ #Computadoras ____ Internet ____ Teléfono fijo ____ #Celulares ____ Dispositivos electrónicos [especificar] _____
 Como calienta sus alimentos _____ Boiler de gas ____ #Carros ____ #Motocicletas ____ #Bicicletas ____ Asegurado ____ Cual _____ Ayuda económica gubernamental ____ Cual _____

PERFIL ANTROPOMÉTRICO

PRUEBA	FECHA	Captura 1	Captura 2	Captura 3
	HORA			
MEDIDAS	Peso			
	Talla			
	TA			
	Cintura			
	Cadera			
RESULTADOS	IMC			
	ICC			

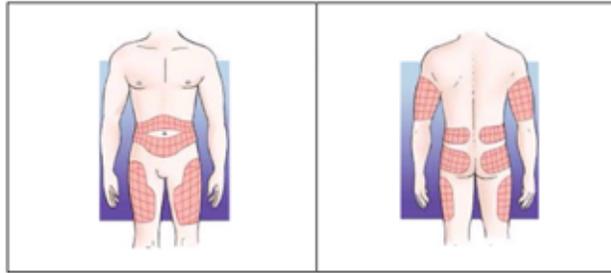
HISTORIAL CLÍNICO

ANTECEDENTES GINECOBRECTICOS

Menarca ____ FUM ____ Ritmo ____ #Gestaciones ____ Parto ____ Cesárea ____ Aborto ____ Diabetes gestacional ____
 Anticonceptivos hormonales ____ Menopausia ____ Tx ____ Ultima consulta con ginecólogo ____ Papanicolaou ____

APH _____ APP _____ Fecha de detección de DM _____
 Tiempo desde la detección _____ Herramienta usada para diagnóstico de DM _____ ¿Controlada? ____ Tipo de control _____ Insulina ____ Tipo de insulina _____ Dosis _____
 Horarios _____ Técnica _____ Auto monitoreo ____ Frecuencia de auto monitoreo _____
 Alergias _____ Intolerancias _____ Cx anteriores _____

EN CASO DE TRATAMIENTO CON INSULINA, MARCAR SITIOS DE APLICACIÓN



VALORACIONES MEDICAS\AUTOMEDICACIÓN\TX ALTERNATIVO

INTERCONSULTAS - PODÓLOGO

¿Ha ido con un podólogo? ____ Cuantas veces al año ____ Fecha de última consulta ____ Cuidados podológicos ____
 _____ Cuidados generales en los pies _____

 Tratamiento podológico específico actual [uñas, piel] _____
 _____ Valoraciones podológicas totales _____
 Cx anteriores en pie _____

INTERCONSULTAS

Tx médico actual _____
OFTALMÓLOGO ____ Primer visita ____ Dx ____ Última visita ____ Dx ____
FONDO DE OJO ____ Fecha ____ Dx ____ Miopía ____ Astigmatismo ____ Hipermetropía ____
INTERCONSULTAS CON ALGÚN OTRO PROFESIONAL O NO PROFESIONAL DE LA SALUD ____ Cual ____
 Desde cuando ____ Fecha de inicio ____ Última fecha ____
AUTOMEDICACIÓN ____ Descripción ____ Desde cuando ____
TX ALTERNATIVO ____ Descripción ____ Desde cuando ____

ANÁLISIS CLÍNICOS [MÁXIMO 2 SEMANAS ANTES]

FECHA	FECHA
Glucosa	Glucosa
Urea	Urea
Creatinina	Creatinina
Ácido úrico	Ácido úrico
Colesterol	Colesterol
Triglicéridos	Triglicéridos

Primer HbA1C ____ Fecha ____
Última HbA1C ____ Fecha ____
Toma de destroxis al momento ____
Hora de último alimento ____
HbA1C actualizada ____ Fecha ____

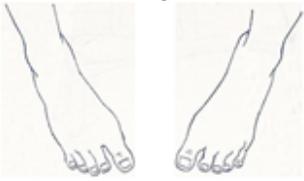
FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

Pollo ___\7 Res ___\7 Pescado ___\7 Cerdo ___\7 Huevo ___\7 Queso ___\7 Leche ___\7 Frijoles ___\7 Tortillas ___\7 Arroz ___\7 Pan ___\7
 Pastas ___\7 Verd ___\7 Frutas ___\7 Embutidos ___\7 Enlatados ___\7 Refresco ___\7 Golosinas ___\7 OH ___\7 Tabaco ___\7 Cafeína ___\7
 Agua _____ Actividad física ___\7 Descripción de tipo de actividad _____ Horario _____
 Complementos dietarios _____ Otros _____

RECORDATORIO DE 24 HRS.

Comidas		Grupos	Ración
Hr		Cereales	
		Leguminosas	
Hr		Carne	
		Verdura	
Hr		Fruta	
		Leche	
Hr		Grasa	
		Azúcar	
Hr			

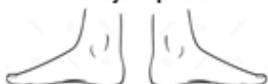
EXPLORACIÓN DE PIES
EXPLORACIÓN FÍSICA DE PIES

<p>Perfil superior</p> 	<p>Observaciones:</p>
<p>Perfil inferior</p> 	
<p>Perfil lateral interior</p> 	
<p>Perfil lateral exterior</p> 	

Deformidades apreciables



CLASIFICACIÓN DE LESIONES DE PIE DIABÉTICO DE LA UNIVERSIDAD DE TEXAS				
ESTADIO	GRADO			
	0	1	2	3
A	Lesión preulcerativa ó postulcerativa completamente epitelizada	Herida superficial, sin afectación de tendón, cápsula ó hueso	Herida penetrante hasta el tendón ó cápsula	Herida penetrante hasta el tendón ó articulación
B	Infección	Infección	Infección	Infección
C	Isquemia	Isquemia	Isquemia	Isquemia
D	Infección e isquemia	Infección e isquemia	Infección e isquemia	Infección e isquemia

<p>Evaluación sensorial con monofilamento</p> 	<p>Observaciones:</p>
<p>Sensibilidad con diapasón</p> 	<p>Observaciones:</p>
<p>Reflejo Aquileo</p> 	<p>Observaciones:</p>

Evaluación de sujeto de estudio respecto a sus pies

¿Sensaciones inusuales en sus pies? _____ ¿Cuáles? _____ ¿Desde cuándo? _____
 ¿Dolor? _____ ¿Desde cuando? _____ ¿Ardor? _____ ¿Desde cuando? _____
 ¿Comezón? _____ ¿Desde cuándo? _____ ¿Ha sentido pérdida de sensibilidad en los pies? _____
 ¿Desde cuándo? _____ ¿Puede caminar? _____ ¿Puede recorrer distancias largas? _____
 ¿Cuánto tiempo? _____ ¿Usa bastón? _____ ¿Ha modificado su manera de caminar? _____ ¿Cómo? _____

OBSERVACIONES

CONTACTO CELULAR _____ CONTACTO E-MAIL _____

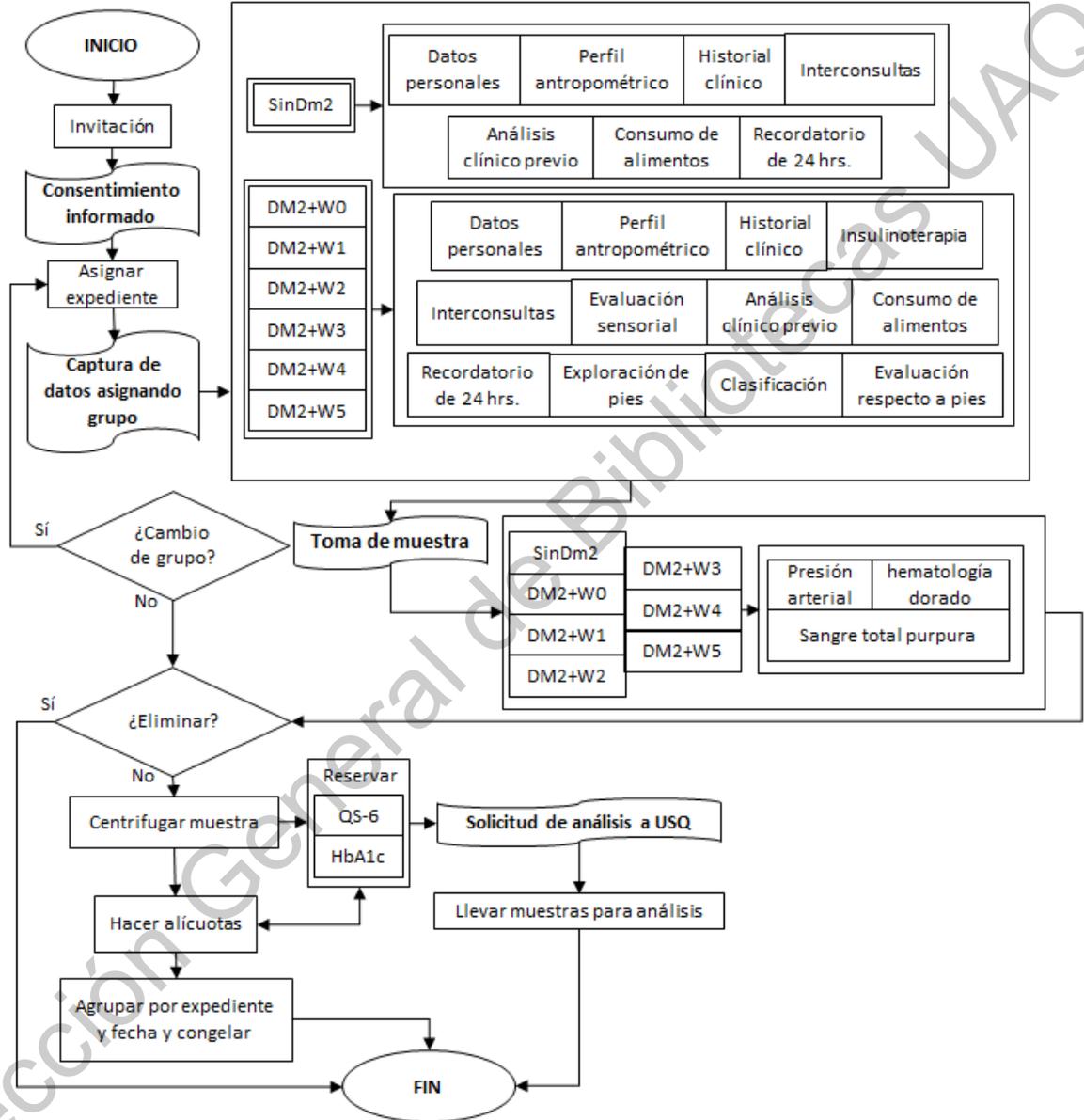
Estoy de acuerdo en que se use mi información para la realización de esta investigación Sí _____ No _____

NOMBRE Y FIRMA DE SUJETO DE ESTUDIO _____

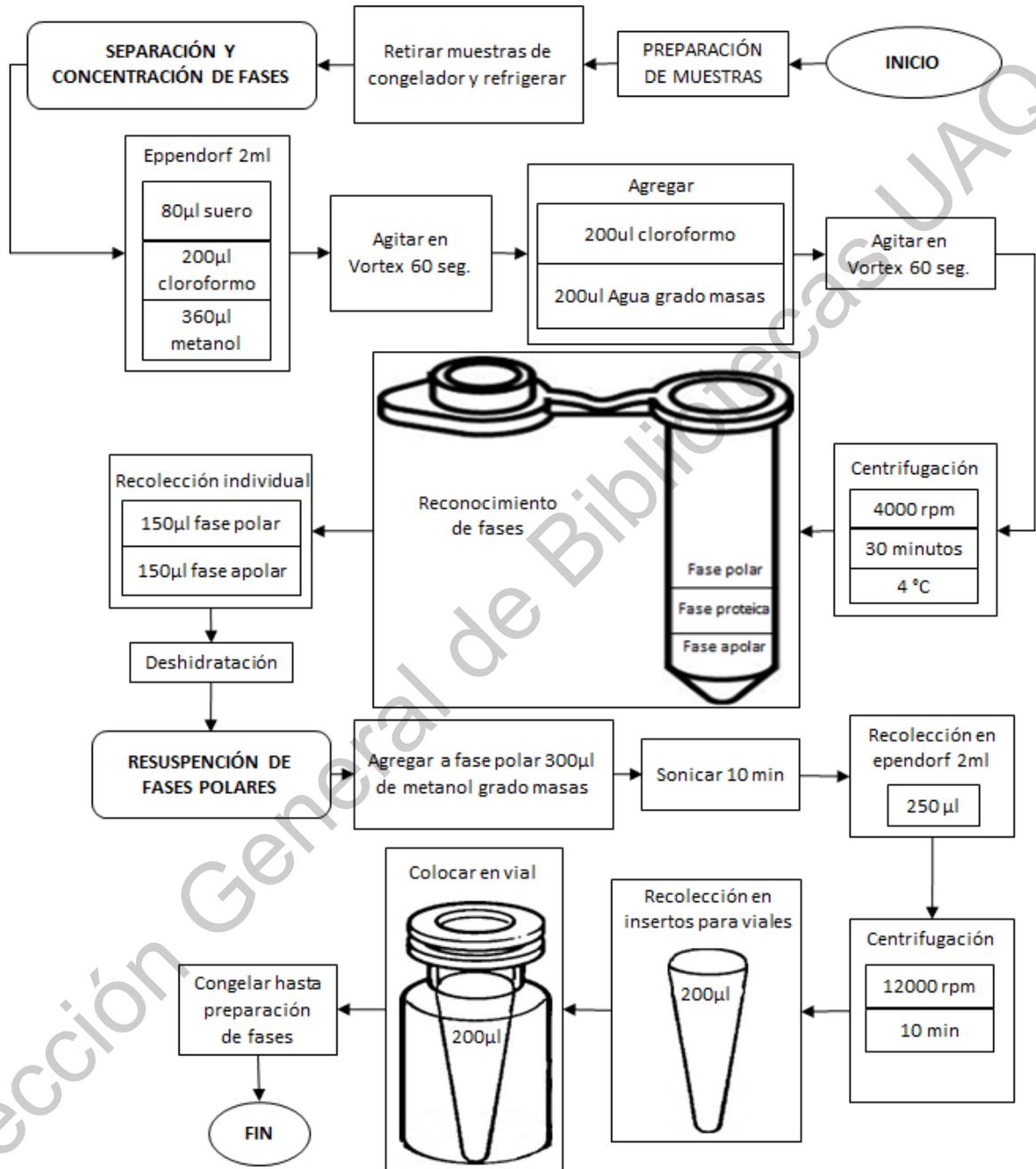
5

5

ANEXO 6. Diagrama de flujo del proceso de reclutamiento, captura de datos, toma de muestra de sangre, solicitud de análisis y almacenamiento de muestras.



ANEXO 7. Proceso de separación, resuspensión de fases y preparación en vial ámbar.



ANEXO 8. Proceso de separación de fases móviles para el análisis metabolómico

