

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**“PERFIL METABOLÓMICO DE ORINA POR RMN DE PACIENTES CON  
NEFROPATÍA DIABÉTICA EN ETAPAS AVANZADAS”**

**Por**

**DRA. IRIS CAMELIA FARÍAS NAVARRO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**FEBRERO, 2021**

**“PERFIL METABOLÓMICO DE ORINA POR RMN DE PACIENTES CON  
NEFROPATÍA DIABÉTICA EN ETAPAS AVANZADAS”**

**Aprobación de la tesis:**



---

**Dra. Paula Cordero Pérez  
Directora de tesis**



---

**Dra. Alma Leticia Saucedo Yáñez  
Co-Directora de tesis**



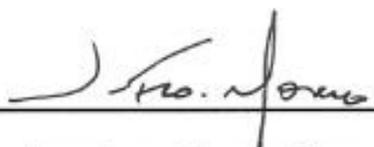
---

**Dr. Juan Fernando Góngora Rivera  
Coordinador de Investigación**



---

**Dr. Med. Homero Nañez Terreros**  
**Jefe de Departamento de Medicina Interna**



---

**Dr. Juan Francisco Moreno Hoyos-Abril**  
**Jefe de Enseñanza del Departamento de Medicina Interna**



---

**Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
**Subdirector de Estudios de Posgrado**



# AGRADECIMIENTO

*We all change, when you think about it.  
We're all different people all through our lives.  
And that's OK, that's good, you gotta keep moving,  
so long as you remember all the people that you used to be:"*

*Steven Moffat*

Quiero agradecer en primera instancia a mis padres y a mis hermanos por su apoyo incondicional durante toda mi carrera y la especialidad. Quienes nunca se han cansado de apoyarme.

A mi directora y co-directora de tesis que pese a todo no perdieron la esperanza en mí y nunca dejaron de ayudarme.

Por último, a mi novio Gerardo, gracias por acompañarme en este viaje y mantenerte a mi lado apoyándome, animándome en todo el camino.

# TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO	PÁGINA
<b>CAPITULO I.</b>	
<b>1. RESUMEN</b>	13
<b>CAPITULO II</b>	
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	
2.1. Definición de la enfermedad renal crónica	15
2.2. Clasificación de la enfermedad renal crónica	16
2.3. Métodos de estadificación de la enfermedad renal crónica	16
2.4. Panorama epidemiológico de la enfermedad renal crónica	18
2.5. Definición de metabolómica	19
2.6. Metabolómica y enfermedad renal crónica	21
2.7. Metabolómica y nefropatía diabética	22
2.8. Justificación	24
<b>CAPITULO III</b>	26
<b>3. HIPÓTESIS</b>	
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>4. OBJETIVOS</b>	
4.1. Objetivo primario	27

4.2. Objetivos secundarios	27
----------------------------	----

## **CAPITULO V**

### **5. MATERIAL Y METODOS**

5.1. Diseño metodológico	28
5.2. Selección y Tamaño de la muestra	28
5.3. Criterios de inclusión	29
5.4. Criterios de exclusión	29
5.5. Variables	30
5.6. Consentimiento informado	30
5.7. Procedimiento	31
5.8. Análisis metabólico de orina por RMN	31
5.9. Captura	31
5.10. Análisis e interpretación de la información	32
5.11. Aprobación por el comité de ética	32
5.12. Proceso en caso de anomalías no previstas	33

## **CAPITULO VI**

### **6. RESULTADOS**

6.1. Parámetros antropométricos	34
6.2. Comorbilidades	36
6.3. Parámetros bioquímicos	37
6.4. Parámetros de daño renal	39

6.5. Perfil metabólico	41
6.6. Vías metabólicas implicadas	47
<b>CAPITULO VII</b>	
7. DISCUSIÓN	49
<b>CAPITULO VIII</b>	
8. CONCLUSIÓN	54
<b>CAPITULO IX</b>	
9. BIBLIOGRAFÍA	55
<b>CAPITULO X</b>	
10. ANEXOS	61
10.1. Hoja de captura	
<b>CAPITULO XI</b>	
11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	63

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
<b>1. Características demográficas de los diversos grupos de estudio</b>	35
Clasificadas por grupos de acuerdo a TFG, se estadifico en 3 grupos: control, estadios tempranos y estadios avanzados.	
<b>2. Clasificación grupos de acuerdo a IMC.</b>	36
<b>3. Comorbilidades en pacientes con diagnóstico de DM2 (grupos KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4)</b>	37
Se muestra cinco comorbilidades interrogadas en cuestionario inicial, mostrando porcentaje presentado de cada enfermedad asociada.	
<b>4. Parámetros bioquímicos de los 3 grupos de estudio.</b>	38
Se muestran los parámetros obtenidos en los 3 grupos de estudio al valorar química sanguínea, BUN, creatinina y ácido úrico.	

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
<b>1. Clasificación de la función renal</b>	17
De acuerdo a tasa de filtrado glomerular y presencia de albuminuria de acuerdo a <i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i> (KDIGO).	
<b>2. Metabolitos candidatos a biomarcadores de progresión a ERC</b>	23
Fuente Niewczas et al, <i>Diabetes Care</i> (2017). Se muestran los nueve metabolitos que mostraron significancia posterior a análisis multivariable y se proponen como candidatos biomarcadores de progresión de ERC	
<b>3. Grupos de estudio de acuerdo a la clasificación de TFG por CKD-EPI</b>	34
División en 3 grupos de sujetos del estudio de acuerdo a TFG por ckd-epi calculado con creatinina sérica.	
<b>4. Comparación bioquímica de las diversas poblaciones</b>	39
<b>5. Comparación marcadores de daño renal en los diversos grupos de estudio.</b>	40
<b>6. Análisis metabólico por RMN de muestra de orina en paciente con clasificación KDIGO 1-2.</b>	41
<b>7. Perfil metabólico por RMN protónica (400 MHz) de orina de sujetos sanos (n=19).</b>	42
<b>8. Perfil metabólico de orina por RMN protónica (400 MHz) de pacientes diabéticos con estadios tempranos de ERC, KDIGO 1-2 (n=21).</b>	43

<b>9. Perfil metabólico de orina por RMN protónica (400 MHz) de estadios avanzados de ERC, KDIGO 3-4 (n=25)</b>	44
---	----

<b>10. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: citrato.</b>	45
---	----

A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que las señales del citrato disminuyen conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.

<b>11. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: glicina.</b>	45
---	----

A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que la señal de la glicina disminuye conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.

<b>12. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: creatinina y glicolato.</b>	46
--	----

A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que las señales de la creatinina y el glicolato disminuyen de intensidad conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos

<b>13. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: formiato.</b>	46
--	----

Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: formiato. A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que la señal del formiato disminuye conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.

<b>14. Vías metabólicas implicadas</b>	48
--	----

<b>15. Rutas metabólicas más afectadas en los pacientes diabéticos con ERC</b>	53
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

BUN: nitrógeno de la urea

°C: grados Centígrados

CG: cromatografía de gases

Cist-C: Cistatina C

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

CL: cromatografía de líquidos

CreaU: creatinina urinaria

D2O: Agua deuterada

DA: análisis discriminante

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

EM: espectrometría de masa

ERC: Enfermedad renal crónica

ERT: Enfermedad renal terminal

EVC: Evento vascular cerebral

HAS: Hipertensión arterial sistémica

HMDB: Human Metabolomic Data Base

IMC: índice de masa corporal

kDA: Kilodalton

KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcomes

KIM-1: urine kidney injury molecule 1

L-FABP: proteína ligadora de ácidos grasos del hígado

METLIN: Metabolomics Database

mg/dL: medida internacional que indica miligramos sobre decilitros

NGAL: lipocaina asociada con la gelatinasa de neutrófilos.

PCA: análisis componentes principales.

PLS-DA: análisis de mínimos cuadrados

QDA: análisis discriminante cuadrático.

RMN: resonancia magnética nuclear.

SVM: máquinas de soporte vectorial.

TFG: tasa de filtrado glomerular.

TMAO: N-óxido de trimetilamina

TSP: Trimetilsilil propionato de sodio

# **CAPÍTULO I**

## **RESUMEN**

### **PERFIL METABOLÓMICO POR RMN DE PACIENTES CON NEFROPATÍA DIABÉTICA EN ETAPAS AVANZADAS.**

#### **INTRODUCCIÓN**

La diabetes mellitus 2 (DM2) es la primera causa de enfermedad renal crónica (ERC) a nivel mundial y en México se estima que genera el 55% de los casos. Por esta razón es apremiante encontrar marcadores tempranos que permitan detectar, monitorizar progresión e inclusive respuesta a tratamiento.

En este trabajo de tesis se realizó un estudio de metabolómica (perfil de los metabolitos en una muestra biológica), como método de investigación para identificar metabolitos que puedan fungir como marcadores distintivos de ERC.

#### **PACIENTES Y MÉTODOS**

Se analizó el perfil metabolómico en orina mediante los espectros de resonancia magnética nuclear de 46 pacientes diabéticos; divididos en dos grupos: 21 sujetos con ERC estadios tempranos (1-2), 25 en estadios avanzados (3-4) que fueron comparados con un tercer grupo integrado por 19 individuos sanos (control). Adicionalmente se

obtuvieron datos del perfil bioquímico, hematológico, y niveles de cistatina C y microalbuminuria.

## **RESULTADOS**

La población se compuso de un conjunto de individuos 52% del género femenino y 48% masculino, con una edad promedio de 34, 57 y 54 años para los grupos control, ERC 1-2 y ERC 3-4 respectivamente.

Al analizar en los grupos se encontraron para el control, ERC 1-2 y ERC 3-4 los siguientes valores: glucosa  $90\pm 5.8$  mg/dL,  $182\pm 79.4$  mg/dL y  $128\pm 48.8$  mg/dL; creatinina  $0.9\pm 0.15$  mg/dL,  $0.82\pm 0.18$  mg/dL y  $2.03\pm 0.65$  mg/dL; microalbuminuria de  $1.4\pm 2.12$  mg/dL,  $15.4\pm 34.3$  mg/dL,  $99.6\pm 115$  mg/dL; cistatina C  $0.6\pm 0.1$  mg/dL,  $0.89\pm 0.2$  mg/dL y  $2.28\pm 0.62$  mg/dL respectivamente.

En el análisis metabolómico de orina se identificaron 50 metabolitos, de los cuales cinco: citrato, glicina, creatinina, glicolato y formiato presentaron un patrón inversamente proporcional al grado de progresión de ERC.

## **CONCLUSIÓN**

A partir de los resultados del estudio metabolómico de orina se estableció como candidatos a biomarcadores urinarios que permiten diferenciar el grado de ERC en la población de estudio a un conjunto de cinco metabolitos: citrato, glicina, creatinina, glicolato y formiato. Estos resultados son consistentes con los reportes disponibles en la literatura.

## CAPÍTULO II

### INTRODUCCIÓN

#### 2.1. Definición de la enfermedad renal crónica

En la actualidad existe una fuerte prevalencia de nefropatías derivadas de trastornos metabólicos en países con alto grado de obesidad, los cuales están fuertemente relacionados con la enfermedad renal crónica (ERC).(1)

La ERC se define como anomalías en la estructura o función del riñón presentes durante 3 meses con implicaciones en la salud; se clasifica de acuerdo a la etiología, TFG y presencia de albuminuria.

Una TFG disminuida se refiere a cuando esta es menor de 60 mL/min/1.73m<sup>2</sup> e insuficiencia renal cuando la tasa de filtrado se encuentra menor o igual a o 15 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (2).

El riñón tiene múltiples funciones las cuales incluyen la excreción, endocrinas y metabólicas. La tasa de filtración glomerular (TFG) es un componente de la función excretora y es ampliamente aceptado como indicador de la función renal porque generalmente se reduce después de un daño estructural y, además de que la mayoría de las funciones renales (tales como equilibrio ácido-base, equilibrio electrolítico, etc.)

disminuyen en paralelo con la TFG en la ERC. Se elige un umbral de  $<60 \text{ mL/min/1.73m}^2$  (clase E3a-E5) por 3 meses para diagnosticar ERC (3).

La ERC está considerada una enfermedad catastrófica debido al número creciente de casos, por los altos costos de inversión, recursos de infraestructura y recursos humanos limitados, la detección tardía y las altas tasas de morbilidad y mortalidad en los programas de sustitución.

## **2.2. Clasificación de la enfermedad renal crónica**

La enfermedad renal crónica se puede clasificar en 5 etapas de acuerdo a la TFG, obtenido con la fórmula de Cockcroft\_Gault(4), en: G1 cuando la TFG es mayor a  $90 \text{ mL/min/}$ , G2  $60\text{-}89 \text{ mL/min}$ , G3a  $45\text{-}59 \text{ mL/min}$ , G3b  $30\text{-}44 \text{ mL/min}$ , G4  $15\text{-}29 \text{ mL/min}$  y G5 menor a  $15 \text{ mL/min}$ . Además de incluir la medición de albúmina en orina, clasificando a su vez en A1 cuando es menor de  $30 \text{ mg/g}$ , A2  $30\text{-}300 \text{ mg/g}$  o A3 más de  $300 \text{ mg/g}$ . (Figura 1).

## **2.3. Métodos de estadificación de la enfermedad renal crónica**

Lamentablemente las formulas desarrolladas para la estimación de la TFG tienen limitaciones, por ejemplo, aquellas basadas en la creatinina se ven influenciadas por la edad, el sexo y particularmente por la masa muscular (5). Por ejemplo, en las pruebas de esfuerzo en atletas jóvenes los valores de creatinina de  $12 \text{ mg/dL}$  son normales y no indican de ninguna manera daño renal, en contraparte un adulto mayor de bajo peso que

presente valores de creatinina sérica de 1.7 mg/dL puede padecer ERC en un estado avanzado (6).

Clasificación de la ERC según las guías KDIGO 2012					
KDIGO 2012 Filtrado glomerular Categorías, descripción y rangos (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )			Albuminuria Categorías, descripción y rangos		
			A1	A2	A3
			Normal a ligeramente elevada	Moderada- mente elevada	Gravemente elevada
			< 30 mg/g <sup>a</sup>	30-300 mg/g <sup>a</sup>	> 300 mg/g <sup>a</sup>
G1	Normal o elevado	≥ 90			
G2	Ligeramente disminuido	60-89			
G3a	Ligera a moderadamente disminuido	45-59			
G3b	Moderada a gravemente disminuido	30-44			
G4	Gravemente disminuido	15-29			
G5	Fallo renal	< 15			

Rev Esp Geriatr Gerontol. 2017;52:152-8

**Figura 1. Clasificación de la función renal de acuerdo a la tasa de filtrado glomerular y presencia de albuminuria de acuerdo a la *Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)***

No obstante continua la falta de sensibilidad que ha conducido a la necesidad de proponer nuevos marcadores que permitan la detección de lesión renal especialmente en etapas tempranas como lo son la medición sérica de cistatina C (Cis-C), lipocaina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) así como marcadores urinarios como la molécula de lesión renal (KIM-1 urine kidney injury molecule 1) y la proteína ligadora de ácidos grasos del hígado (liver fatty acid-binding protein L-FABP) (7). A continuación, se describen algunos de estos marcadores y su utilidad en el diagnóstico de ERC.

### *Cistatina C*

La Cis-C se produce en las células nucleadas con peso molecular de 13 kDa por lo cual se filtra en el glomérulo y se reabsorbe en el túbulo proximal.

Los niveles de Cis-C son menores que los niveles de creatinina y dependientes de edad, sexo y especialmente masa muscular que los niveles de creatinina. Sin embargo, niveles elevados de glucocorticoides pueden aumentar la producción de cistatina-C independientemente de la TFG (7).

### *NGAL*

Es una glucoproteína de 24 kDa que se expresa en el epitelio de los tubulos renales por lo que un aumento en la concentración urinaria es indicador de lesión renal aguda que puede ser detectado antes del aumento de la creatinina sérica. Se considera un potencial biomarcador de ERC, pues se sobreexpresa tanto a nivel sérico como urinario en pacientes con diagnóstico de nefropatía crónica (7).

### *KIM-1*

Es un tipo de proteína de membrana expresada en la membrana apical del túbulo proximal, la cual se libera a la luz del túbulo y se identifica en la orina. En personas sin lesión renal se encuentra indetectable, en caso de lesión renal sirve como un marcador específico y sensitivo de daño a nivel del túbulo proximal (7).

## **2.4. Panorama epidemiológico de enfermedad renal crónica**

Nuestro país está compuesto por 32 estados con una población identificada en el año 2015 de 119 millones 530 mil 753 de habitantes.(8) Hasta el momento en México,

se estima una incidencia de pacientes con ERC de 377 casos por millón de habitantes y una prevalencia de 1,142 en este mismo número de habitantes; se reporta que al alrededor de 52.000 pacientes con esta enfermedad están en terapias sustitutivas (9). Así mismo, el 60% de los pacientes con ERC padecen nefropatía diabética (10). En la etapa terminal (etapa 5) de la ERC el trasplante renal es la única medida terapéutica para una sobrevivida mayor a 1 año (11).

Según el Registro Nacional de Trasplantes, más de 20 mil personas están en lista de espera para recibir un trasplante de riñón, que en su mayoría son personas en edad productiva (12). En el estudio de proyecciones “Enfermedad renal crónica y su atención mediante tratamiento sustitutivo en México”, de la Secretaría de Salud y la UNAM, se estima que los casos de ERC en estadio 5 crecerán de poco más de 40 mil nuevos casos en el 2005 a 82 mil casos para el 2025 (13). Esto representa un incremento del 65% en sólo 20 años. Este comportamiento actual de la demanda del trasplante renal pone el tema en las prioridades y retos para los servicios de salud en México.

## **2.5. Definición de metabolómica**

El metaboloma es la colección de los metabolitos en un organismo biológico, siendo estos el producto final de la expresión de genes y la síntesis de proteínas junto con la respuesta de la célula al estrés ambiental. El análisis metabolómico es un proceso de análisis químico que permite identificar y cuantificar los metabolitos presentes en una muestra biológica. Se enfoca en aquellos con una masa molecular de 80 a 1200 Da. Dependiendo de las herramientas utilizadas, en un solo análisis de metabolómica se

puede detectar desde decenas hasta miles de metabolitos en una sola muestra incluidas moléculas muy diversas como son los azúcares, aminoácidos, dipéptidos, lípidos y ácidos orgánicos. Es aquí donde toma importancia el uso de la metabolómica, la cual representa una herramienta única para responder preguntas clínicas. Permite realizarse una huella metabólica en lugar de un solo marcador. El metaboloma es la colección de los metabolitos en un organismo biológico, siendo estos el producto final de la expresión de genes y la síntesis de proteínas junto con la respuesta de la célula al estrés ambiental (14).

Las técnicas analíticas más comúnmente usadas para realizar estudios de aproximación metabolómica son las cromatografías de líquidos (CL) y gases (CG), la espectrometría de masas (EM) y la resonancia magnética nuclear (RMN). Posteriormente, para procesar la vasta cantidad de datos derivada de los diferentes procedimientos de análisis es necesario utilizar métodos de estadística multivariable para discriminar variables. Por otra parte, independientemente de la técnica analítica seleccionada, es necesario llevar a cabo la identificación de metabolitos. Adicionalmente, es imprescindible el acceso a bases de datos públicas como Human Metabolomic Data Base (HMDB) o METLIN Metabolomics Database (METLIN), así como también, a bibliotecas comerciales de datos espectroscópicos (RMN y EM, principalmente) para llevar a cabo el proceso de identificación (14).

Finalmente, los datos espectrométricos y espectroscópicos generados por CL-MS y RMN, respectivamente, deben ser analizados con la finalidad de discriminar entre

similitudes o bien establecer diferencias entre un estado de salud considerado sano o control y la patología que se encuentre bajo estudio. Es por ello que para poder procesar la vasta cantidad de datos derivados de los distintos procedimientos de análisis es necesario emplear métodos estadísticos multivariantes, algunos de los más empleados por su accesibilidad y correlación son el análisis de componentes principales (PCA) y el de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), mediante el uso de programas computacionales especializados en ello.

## **2.6. Metabolómica y enfermedad renal crónica**

En años recientes, diversos reportes de revisión han demostrado correlaciones entre la función renal y metabolitos específicos en pacientes con ERC. En distintos estudios se han encontrado concentraciones alteradas asociadas con la incidencia y las complicaciones de la enfermedad renal. Por ejemplo, el análisis metabolómico de muestras de suero y plasma de pacientes afectados por ERC ha permitido la identificación de metabolitos diferenciales como ácido úrico, 4-hidroximandelato, 3-metiladipato, citosina, homogentisato, treonina, metionina, fenilalanina, arginina, sulfóxido de metionina, dimetilargininas simétrica y asimétrica, glucosa, citrato, lactato, valina alanina, glutamato, glicina, taurina, mioinositol, taurina, glicerilfosforilcolina y N-óxido de trimetilamina (TMAO) (15). Particularmente, en pacientes en etapas avanzadas de la ERC presentan variaciones en metabolitos tales como 3-metilhistidina, mioinosito, sulfato de p-cresol, ácido hipúrico y compuestos derivados de la arginina. Adicionalmente, diversos estudios han evaluado el potencial predictivo de biomarcadores de diagnóstico temprano de la ERC tales como C-manosilriptofano, pseudouridina, N-

acetylalanina, eritronato, mioinositol, Nacetilcarnosina, espermidina, y la relación quinurenina/triptófano ya que están fuertemente asociadas con la TFG (16).

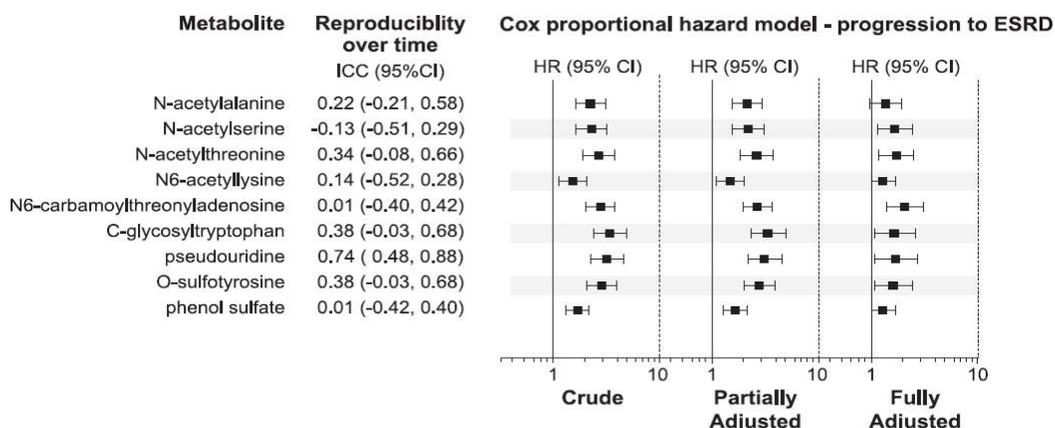
A la fecha, mediante estrategias de análisis basadas en estudios de aproximación metabolómica se han estudiado las distintas etapas de la ERC, con mayor frecuencia, las etapas intermedias y avanzadas. Los resultados obtenidos para el análisis de orina han permitido identificar metabolitos tales como: 5-oxoprolina, guanidinoacetato, glutamato, homoarginina, -fenil-acetilglutamina, taurina, citrato, treonina y N-óxido de trimetilamina, que podrían ser utilizados para monitorear la progresión y para desarrollar un método analítico de detección temprana de la enfermedad. En específico, se ha demostrado que los niveles de N-óxido de trimetilamina tienen una fuerte asociación con el grado de deterioro de la función renal en pacientes con ERC (16).

## **2.7. Metabolómica y nefropatía diabética**

La DM2 es la primera causa de enfermedad renal terminal (ERT) a nivel mundial y en México se estima que genera el 55% de los casos. La hiperglucemia sostenida está fuertemente relacionada con el deterioro de la función renal y la progresión a falla renal terminal. En este contexto, en los reportes de la huella metabolómica de la ERC asociada a DM2 se han identificado niveles alterados de las toxinas urémicas (creatinina, TMAO y urea), citrato, leucina, arginina, glutamina, valina, piruvato, formato, tirosina y colina (17). Debe resaltarse con particular énfasis que, para el caso específico de la nefropatía diabética, los reportes de estudios metabolómicos son escasos.

En el estudio publicado en la revista *Diabetes Care*, examinaron las muestras basales de una cohorte de 158 pacientes con DM tipo 1, proteinuria y ERC etapa 3 donde se encontraron 110 aminoácidos en al menos un 80% de los participantes los cuales correlacionaban con índices de lesión tubular a menor o mayor medida (18).

Esta cohorte donde participaron pacientes con diagnóstico de DM tipo 1, proteinuria y con lesión renal demostró que aquellos pacientes con un aumento circulante de ciertos metabolitos experimentaban mayor disminución en la tasa de filtración como se observa en la Figura 2 (18).



**Figura 2. Metabolitos candidatos a biomarcadores de progresión a ERC.**

Fuente Niewczas et al, *Diabetes Care* (2017). Se muestran los nueve metabolitos que mostraron significancia posterior a análisis multivariable y se proponen como candidatos biomarcadores de progresión de ERC

Por lo que el objetivo principal de un estudio metabólico en esta población altamente relacionada con el desarrollo de enfermedad renal crónica es identificar estadios 1 y 2, ya que un manejo adecuado de la enfermedad permitiría prevenir complicaciones cardiovasculares y la futura pérdida de la función renal. Frecuentemente,

en este grupo de pacientes los síntomas urémicos son difícilmente detectables, por lo que con los métodos de análisis que se utilizan actualmente los estados iniciales son sub-diagnosticados, ya que en las etapas iniciales los pacientes presentan suficiente función renal como para compensar los valores incrementados de las toxinas urémicas. Sin embargo, la alteración en los procesos metabólicos que desencadenan la respuesta del daño renal incipiente podría conducir a la identificación de metabolitos diferenciales. Con respecto a los pacientes con ERC en estadios 3 y 4, el daño renal se ha incrementado significativamente por lo que es más probable que presenten complicaciones como hipertensión, hiperparatiroidismo secundario, acidosis e incluso sintomatología urémica, que están asociados con un perfil metabólico diferenciado.

Finalmente, cuando la ERC alcanza el estadio 5 el paciente es remitido a un servicio especializado de nefrología para iniciar el tratamiento sustitutivo de la función renal mediante diálisis peritoneal, hemodiálisis y, en casos agudos, evaluar la posibilidad de un trasplante renal, por lo que la identificación de metabolitos urinarios o plasmáticos sería útil para identificar la transición a la ERT y sus comorbilidades.

## **2.8. Justificación**

La ERC afecta a cerca del 10% de la población mundial por lo que representa un problema de salud pública debido principalmente a: la incidencia en aumento, el alto costo de inversión en el tratamiento, la limitación de recursos humanos y de infraestructura, la detección tardía y las tasas elevadas de morbilidad y mortalidad en los tratamientos de sustitución renal (19). La ERC es un padecimiento que está directamente

relacionado con la hipertensión, la diabetes mellitus y las dislipidemias, padecimientos que son un problema de salud pública en nuestro país. En México, la DM es la segunda causa de muerte (20) y es causante del 50% de los casos de ERC, mientras que la insuficiencia renal es la décima causa de muerte.

Respecto al diagnóstico de la ERC, los métodos actuales de análisis clínicos basados en TFG a partir del nivel de creatinina, la urea presente en suero sanguíneo y la proteinuria/albuminuria, solo permiten diagnosticar con precisión las etapas intermedias y avanzadas. Esta detección tardía conlleva a corto plazo a un deterioro significativo en la calidad de vida de los pacientes y a largo plazo representa un elevado costo al sistema de salud debido al tipo de tratamiento que requiere. La alta tasa de incidencia de la ERC enfatiza la necesidad de nuevos procedimientos de análisis clínicos para la identificación temprana de la ERC asociada a DM2. En los reportes disponibles en la literatura, la identificación de nuevos biomarcadores para las fases iniciales de la ERC se encuentran principalmente correlacionados a enfermedades cardiovasculares que son frecuentes en la población europea, asiática y estadounidense. A la fecha, son pocos los casos de estudios metabólicos reportados de orina de pacientes con ERC. En particular, en nuestro país no existen datos del perfil metabólico urinario ni de suero sanguíneo de la población que padece enfermedad renal crónica asociada a DM2, por lo que la identificación de biomarcadores de esta enfermedad permitiría eventualmente el desarrollo de un método de análisis químico-clínico para las etapas de progresión iniciales de este padecimiento.

## **CAPITULO III**

### **HIPÓTESIS**

#### **3.1. Hipótesis Verdadera**

Existe un perfil metabólico diferenciado entre las etapas leves de ERC (KDIGO 1-2) y avanzadas (KDIGO 3 y 4) de la nefropatía diabética.

#### **3.2. Hipótesis Nula**

No existe un perfil metabólico diferenciado entre las etapas leves de ERC (KDIGO 1-2) y avanzadas (KDIGO 3-4) de la nefropatía diabética.

## **CAPÍTULO IV**

### **OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo Primario**

Establecer un perfil metabolómico diferenciado entre las etapas leves de ERC (KDIGO 1-2) y avanzadas (KDIGO 3-4) de la nefropatía diabética

#### **4.2. Objetivos Secundarios**

- Determinar parámetros bioquímicos en los diversos grupos de estudio.
- Determinar el grado de daño renal para estadificación de los diversos grupos de estudio
- Desarrollar las metodologías de análisis químicos por RMN para obtener los perfiles metabolómicos de orina.
- Identificar metabolitos diferenciales de los grupos de estudio y relacionar con vías metabólicas implicadas

## **CAPÍTULO V**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **5.1. Diseño metodológico**

Estudio de tipo descriptivo, transversal y prospectivo; realizado en la Unidad de Hígado del Departamento Medicina Interna y el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la UANL, en colaboración con el área de Nefrología del Departamento de Medicina Interna del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la misma universidad.

#### **5.2. Selección y Tamaño de la muestra**

Para establecer el perfil metabólico urinario de pacientes con ERC asociado a DM2, se requiere contar con la disponibilidad de grupos de pacientes que estén diagnosticados con ERC y de los cuales se conozca su etapa de progresión basados en la estimación de la tasa de filtración glomerular a partir de los niveles de creatinina (eGFR) y albuminuria, como establecen las guías de KDIGO.

Los grupos de pacientes derivados de la consulta de Nefrología y Medicina Interna del Hospital Universitario “José Eleuterio González” de la UANL, fueron invitados a participar. Además, se incluyó un grupo control de individuos sanos.

Se clasificaron en 3 grupos con una “n” total a conveniencia.

- Diabéticos con ERC en etapas tempranas (KDIGO 1 y 2)
- Diabéticos con ERC en etapas avanzadas (KDIGO 3 y 4)
- Grupo control de sujetos sanos

### **5.3. Criterios de inclusión**

- Edad mayor de 18
- Edad menor de 65 años
- Sexo femenino y masculino
- Diagnóstico de DM2 y/o ERC en sus diferentes estadios de acuerdo a la clasificación de la KDIGO y fórmula de CKD-EPI con creatinina sérica.
- Firma de consentimiento informado

### **5.4. Criterios de exclusión**

- Patologías adicionales no relacionadas con el cuadro clínico de nefropatía diabética.
- Cáncer activo.
- Diagnóstico de enfermedad autoinmune.
- Tratamiento inmunosupresor.
- No querer forma parte del protocolo.

### **5.5. Variables**

- a) Datos demográficos: edad, sexo, escolaridad, estado civil.
- b) Tiempo de evolución de DM2
- c) En caso de contar con diagnóstico de ERC, tiempo de evolución.
- d) Tratamiento farmacológico

### **5.6. Consentimiento informado**

El investigador principal o quien él designó discutió plenamente el estudio con el sujeto de estudio para obtener su consentimiento informado por escrito. El cual consistirá en la explicación del estudio a realizar, despejar todas sus dudas y de estar de acuerdo pasar al proceso de firmas. El consentimiento informado fue firmado por el sujeto de estudio y 2 testigos por duplicado antes de la iniciación de cualquiera de los procedimientos especificados en el protocolo. Al final de las firmas se dio copia al sujeto de estudio y la otra fue anexada a su expediente.

Para el presente proyecto el CONSENTIMIENTO INFORMADO que se proporcionó a los sujetos de investigación está asociado al protocolo HI19-00001 “Estudio del perfil metabólico de la enfermedad renal crónica asociada a diabetes mellitus tipo 2 como estrategia para la identificación de biomarcadores relacionados con la progresión”, por cual dentro de este proyecto de tesis se consintió en base a éste.

## **5.7. Procedimiento**

Se realizó la toma de muestra sanguínea en ayuno para la determinación de biometría hemática, creatinina sérica, química sanguínea y Cis-C, así como la primera orina de la mañana para análisis de general de orina, microalbuminuria y estudio metabólico). En ambos procedimientos se siguieron las indicaciones de muestreo que establece el Laboratorio Clínico de la Unidad de Hígado del Hospital Universitario. En cuanto fueron recibidas, las muestras de orina fueron mantenidas a 4°C, se consideró un tiempo máximo de 3 horas de vida útil a partir de su colecta, y fueron criopreservadas a -80°C. Junto con los datos del laboratorio se obtuvo una cédula de identificación generada de la historia clínica que permitió obtener las diferentes variables de factores de riesgo y comorbilidades asociadas, alcanzando una correlación más amplia del estado de salud general que presentó cada paciente.

## **5.8. Análisis metabólico de orina por RMN**

La preparación de las muestras para RMN se hizo a partir de 0.5 mL de orina, adicionada con un amortiguador de pH neutro y D<sub>2</sub>O con 0.75% de TSP, centrifugada y transferida al tubo de RMN. Los experimentos de RMN se realizaron en un espectrómetro Bruker HD AVANCE III de 400 MHz equipado con una sonda BBO de 5mm. Los datos espectrales se pre-procesaron con el software TopSpin 3.5 (Bruker).

## **5.9. Captura**

Todos los datos fueron capturados en una base de datos a través del paquete estadístico SPSS versión 17.

### **5.10. Análisis e interpretación de la información**

Una vez obtenidos los perfiles metabolómicos por RMN se realizó el análisis quimiométrico para determinar diferencias entre grupos. Esto se llevó a cabo utilizando una aproximación estadística, tanto uni como multivariable. Los métodos univariados, se utilizaron para explorar las diferencias entre compuestos individuales entre las muestras e identificar si un metabolito específico está en mayor o menor cantidad en los distintos grupos.

Los métodos no supervisados se emplearon para tener una visión general de los datos del estudio metabolómico. El análisis en las componentes principales (PCA), fue el primer paso para analizar los espectros obtenidos y examinar los agrupamientos de las muestras y la detección de anomalías. Con el objetivo de extraer la zona del espectro realmente importante en la diferenciación entre varias clases, y dar lugar a la selección de variables. Hallar las zonas realmente significativas en la diferenciación permitió la identificación de las señales de metabolitos causantes de las diferencias.

### **5.11. Aprobación por el comité de ética**

El estudio fue aprobado por el comité de ética institucional el día 05 de junio del 2019 con el registro: MI19-00005.

### **5.12. Proceso en caso de anomalías no previstas**

En caso de que alguno de los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio que se realizaron en el presente proyecto presentaron un valor de alerta (fuera del valor de referencia) este se le notificó por el laboratorio inmediatamente al médico tratante que colabora en el proyecto para que le informe al sujeto de estudio y este acuda para recibir una atención médica especializada.

## CAPITULO VI

### RESULTADOS

#### 6.1. Parámetros antropométricos.

Se analizaron 65 sujetos en el estudio que se asignaron en grupos de acuerdo a la TFG obtenida por CKD-EPI con creatinina sérica como se muestra en la figura 3.



**Figura 3. Grupos de estudio de acuerdo a la clasificación de TFG por CKD-EPI.**

De los 65 sujetos analizados en este estudio, 34 fueron mujeres (52%) y 31 hombres (48%). El promedio de edad fue de  $50.2 \pm 15$  años en la población total, con una media de 34 años en el grupo control, 56 años en el grupo de estadios tempranos y 54 años promedio en el grupo de estadios avanzados.

En la tabla 1 se muestran las características de cada grupo.

**Tabla 1. Características demográficas de los diversos grupos de estudio.**  
*Clasificadas por grupos de acuerdo a TFG, se estadifico en 3 grupos: control, estadios tempranos y estadios avanzados.*

	CONTROL		ETADIOS TEMPRANO		ESTADIOS AVANZADOS		TOTAL	
	N = 19		N = 21		N = 25		N = 65	
	Media	Mín - Máx	Media	Mín - Máx	Media	Mín - Máx	Media	Mín - Máx
EDAD	34.1	20 - 64	56.9	20 - 64	54.7	43 - 65	50.2	40 - 64
PESO	71.21	52.6 - 100	79.3	52.6 - 100	80.26	51.6 - 116.5	77.3	55.6 - 109.3
IMC	25.4	19.1 - 31.6	31.3	19.1 - 31.6	31.3	22.9 - 55.2	29.5	22.5 - 48.2
SEXO	M = 57.9% (11)	F = 43.1% (8)	M = 23.8% (5)	F = 76.2% (16)	M = 60% (15)	F = 40% (10)	M = 47.7% (31)	F = 52.3% (34)

## 6.2. Comorbilidades

Se comparó la presencia de sobrepeso y obesidad en los 3 grupos. Identificándose un porcentaje alto de pacientes fuera de rangos normales de IMC con 40% en rangos de obesidad (IMC >30), 34% rangos de sobrepeso (IMC 25-30), 25% con rangos normales (IMC 18-24.9) y solo 1% con insuficiencia ponderal (IMC <18). En la tabla 2 se desglosa clasificación de acuerdo al IMC de cada uno de los grupos.

**Tabla 2. Clasificación grupos de acuerdo a IMC.**

	Controles	KDIGO 1-2	KDIGO 3-4	Total
Insuficiencia ponderal IMC <18	0	0	1 (4%)	1 (1%)
Normal IMC 18- 24.9	11 (58%)	1 (5%)	4 (16%)	16 (25%)
Sobrepeso IMC 25-30	6 (32%)	9 (43%)	7 (28%)	22 (34%)
Obesidad IMC >30	2 (10%)	11 (52%)	13 (52%)	26 (40%)

De los 46 pacientes con diagnóstico de DM2 (grupos KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4) se valoraron comorbilidades, identificándose principalmente hipertensión arterial (HAS) en 21 pacientes (46%), en segundo lugar, se identificó dislipidemia en 17 pacientes (37%); siendo el evento vascular cerebral (EVC) con el menor porcentaje de presentación en los pacientes con un 2%. Resto de comorbilidades se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3. Comorbilidades en pacientes con diagnóstico de DM2 (grupos KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4)**

Se muestra cinco comorbilidades interrogadas en cuestionario inicial, mostrando porcentaje presentado de cada enfermedad asociada.

Comorbilidad	Estadios tempranos KDIGO 1-2		Estadios avanzados KDIGO 3-4		Pacientes con DM2	
	Pacientes	%	Pacientes	%	Pacientes	%
HAS	12	57	19	76%	21	46%
Cardiopatía isquémica	0	0	3	12	3	7%
EVC	1	4	0	0	1	2
Dislipidemia	8	38	9	36	17	37
Retinopatía diabética	3	14	8	32	11	24

### 6.3. Parámetros bioquímicos

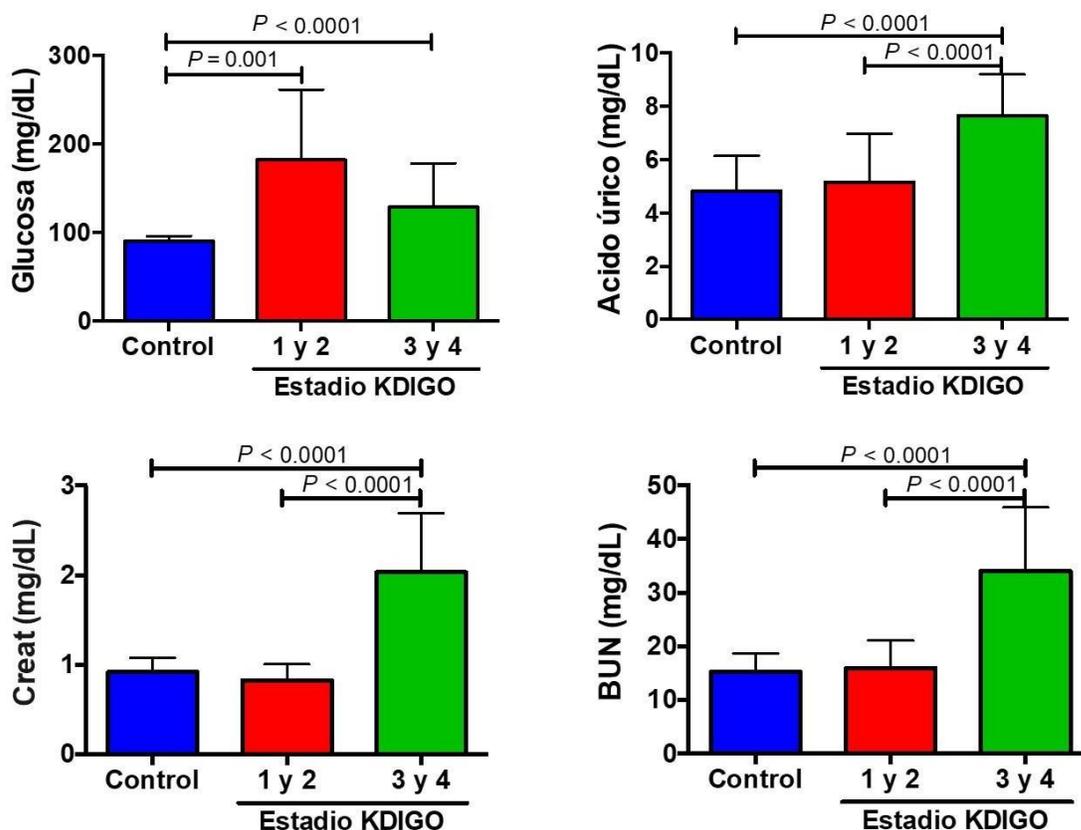
Dentro de los parámetros bioquímicos se determinaron los niveles de glucosa sérica, creatinina sérica, nitrógeno de la urea (BUN) y ácido úrico, obteniéndose un promedio de glucosa de  $90.2 \pm 64.9$  mg/dL en los 64 sujetos, ácido úrico  $6 \pm 2$  mg/dL, creatinina sérica  $1.31 \pm 0.71$  mg/dL y BUN en  $22.6 \pm 12.1$  mg/dL. En la tabla 4 se reporta las medias y desviaciones estándar de los parámetros bioquímicos previamente mencionados, se observó que el promedio de glucosa en ambos grupos de pacientes con DM2 se encontró fuera del valor meta en ayuno ( $<130$  mg/dL).

**Tabla 4. Parámetros bioquímicos de los 3 grupos de estudio.**

Grupo de estudio	Glucosa mg/dL	Ácido úrico mg/dL	Creatinina mg/dL	BUN mg/dL
Total	90.2±64.9	6±2	1.31±0.71	22.6±12.1
Controles	90.2±5.8	4.8±1.32	0.91±0.15	15.2±3.5
KDIGO 1-2	182±79.4	5.15±1.83	0.82±0.18	15.9±5.1
KDIGO 3-4	128.9±48.8	7.6±1.54	2.03±0.65	34±11.8

Al comparar los diversos grupos de estudio se encontró que los niveles de glucosa tuvieron diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el KDIGO 1-2,  $p=0.01$ ; y entre control y KDIGO 3-4,  $p < 0.001$ .

Mientras que, para ácido úrico, creatinina sérica y BUN se encontró diferencia entre grupo control y KDIGO 3-4,  $p < 0.0001$  y entre los grupos KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4,  $p < 0.0001$  (Figura 4).



**Figura 4. Comparación bioquímica entre los diversos grupos de estudio.**

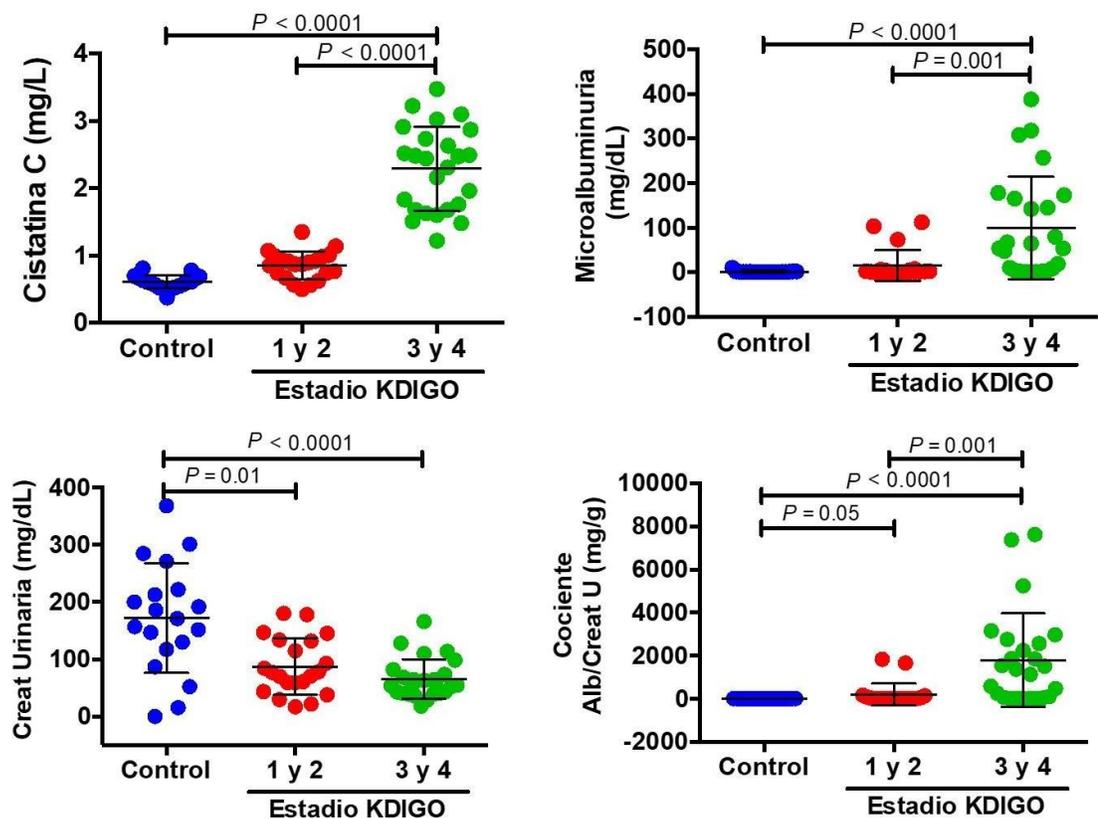
#### 6.4. Parámetros de daño renal

En el estudio se midieron los parámetros de daño renal Cis-C, microalbuminuria urinaria, creatinina urinaria y cociente albumina/creatinina urinaria (Creat U) (Figura 5).

Se presentó diferencia significativa en Cis-C y microalbuminuria entre grupo control y KDIGO 3-4,  $p < 0.0001$ , mientras que entre grupo KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4 se presentó diferencia estadística para Cist-C,  $p < 0.0001$  y para microalbuminuria  $p = 0.001$ .

Se presentó diferencia significativa en Creat U entre el grupo control y KDIGO 3-4,  $p < 0.0001$ , no obstante, entre grupos KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4 sin diferencia significativa (Figura 5).

Respecto a la relación alb/Creat U presentó diferencia significativa entre los grupos control y KDIGO 3-4,  $p < 0.0001$ , sin diferencia entre grupo control y KDIGO 1-2,  $p < 0.05$ ; así como entre KDIGO 1-2 y KDIGO 3-4,  $p < 0.001$  (Figura 5).



**Figura 5. Comparación marcadores de daño renal en los diversos grupos de estudio.**

## 6.5. Perfil metabólico

Se realizó el perfil metabólico por RMN a partir de los datos de los 65 espectros de orina de los sujetos de estudio, obteniéndose más de 50 metabolitos identificados en cada espectro. En la figura 6 se muestra un ejemplo de la asignación de señales en el espectro de RMN de orina de un paciente diabético con ERC clasificado en KDIGO 1-2, donde se incluyen datos de la concentración obtenida para cada metabolito identificado.

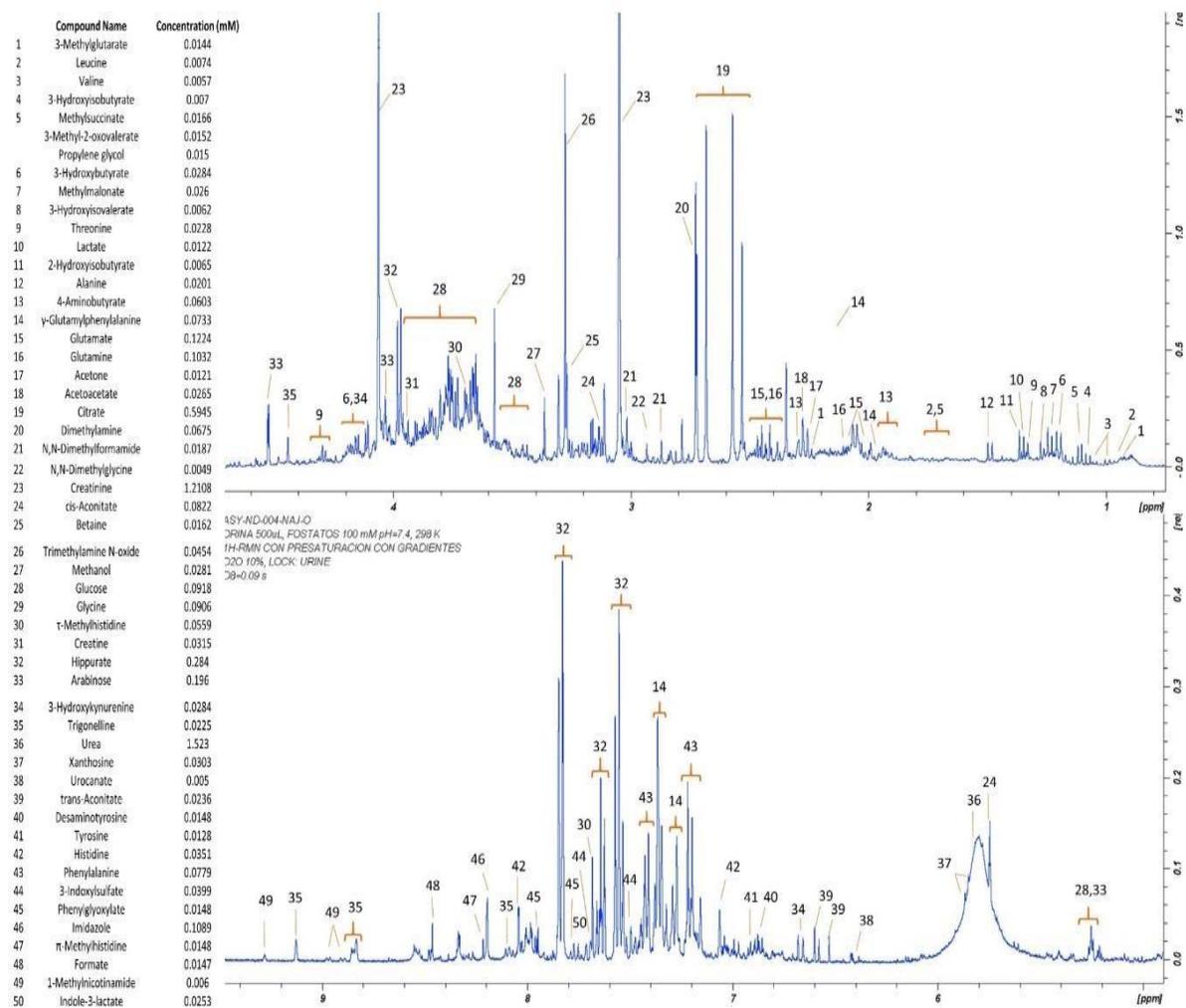
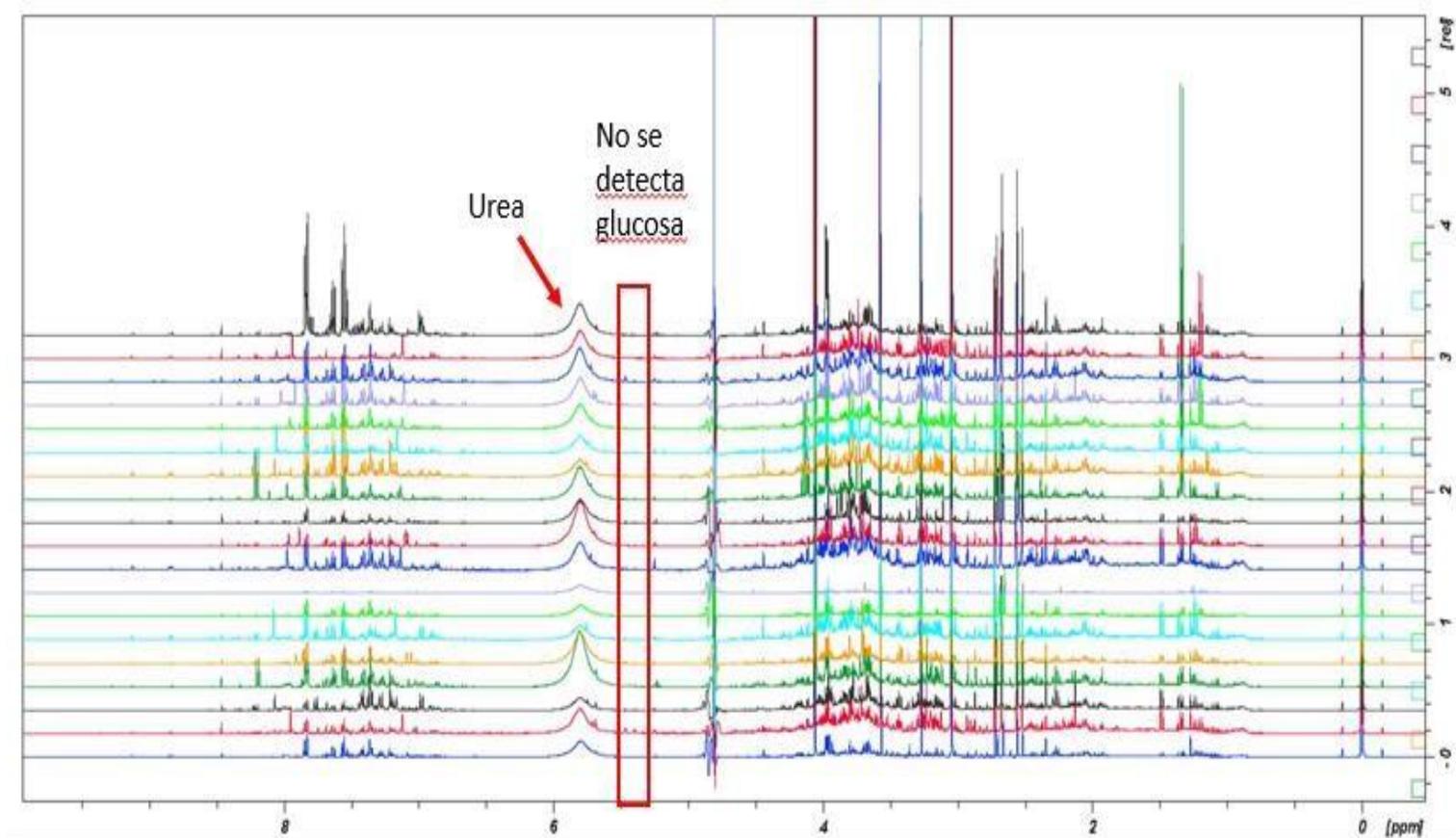


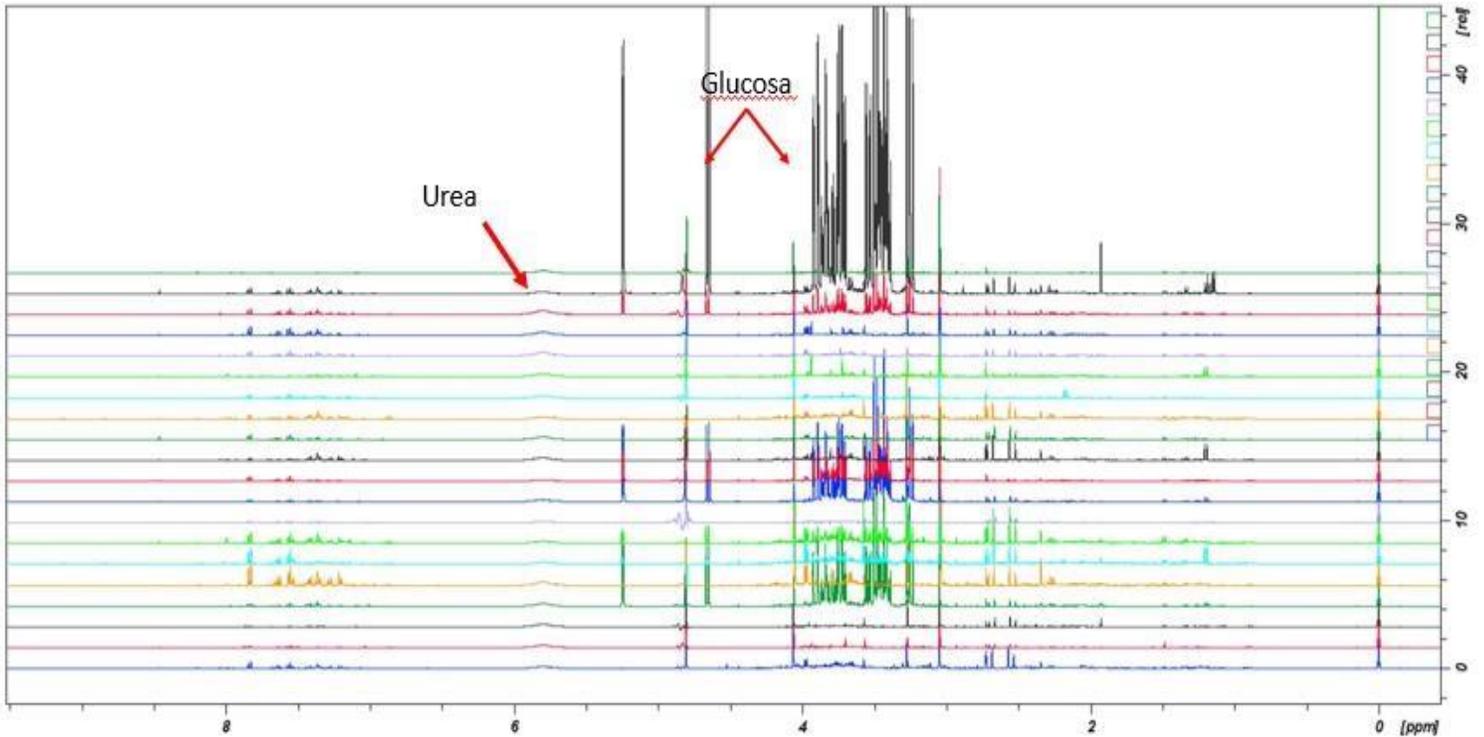
Figura 6. Análisis metabólico por RMN de orina en paciente con clasificación KDIGO 1-2.

De las figuras 7 a la 9 se muestra el perfil metabólico por RMN por separado de cada uno de los grupos del estudio. En la figura 7, que corresponde a los espectros de RMN de orina de sujetos sanos, son fácilmente detectables las señales de metabolitos con protones aromáticos, polares y alifáticos, en particular se destaca la ausencia de señales de glucosa.



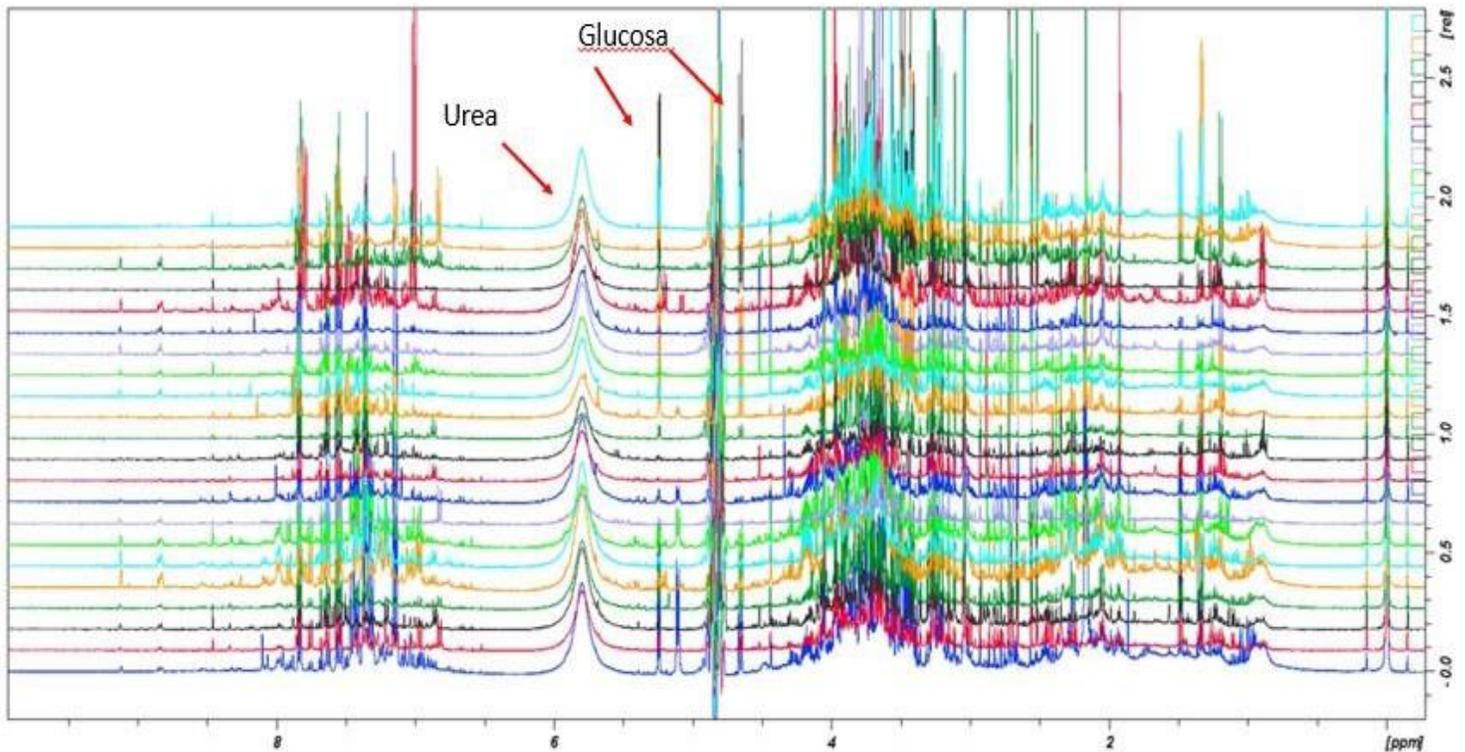
**Figura 7. Perfil metabólico por RMN protónica (400 MHz) de orina de sujetos sanos (n=19).**

En cambio, en el caso de los espectros de RMN de orina de los pacientes diabéticos con ERC KDIGO 1-2 se pudo observar que en algunos casos las señales más intensas correspondieron a glucosa (Figura 8).



**Figura 8. Perfil metabólico de orina por RMN protónica (400 MHz) de pacientes diabéticos con estadios tempranos de ERC, KDIGO 1-2 (n=21).**

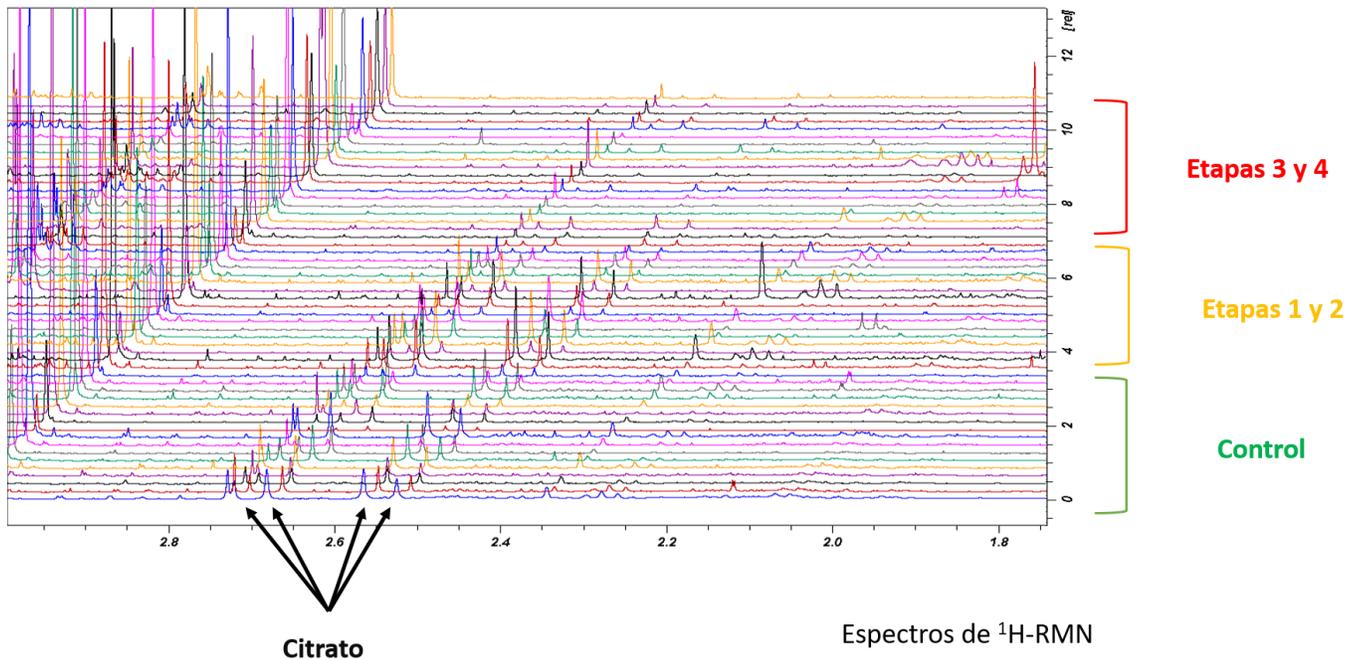
Respecto a los espectros de RMN de orina de los pacientes diabéticos con ERC KDIGO 3-4 se observó que las señales de glucosa son menos intensas (Figura 9). Esto concuerda con los valores obtenidos de glucosa en el EGO.



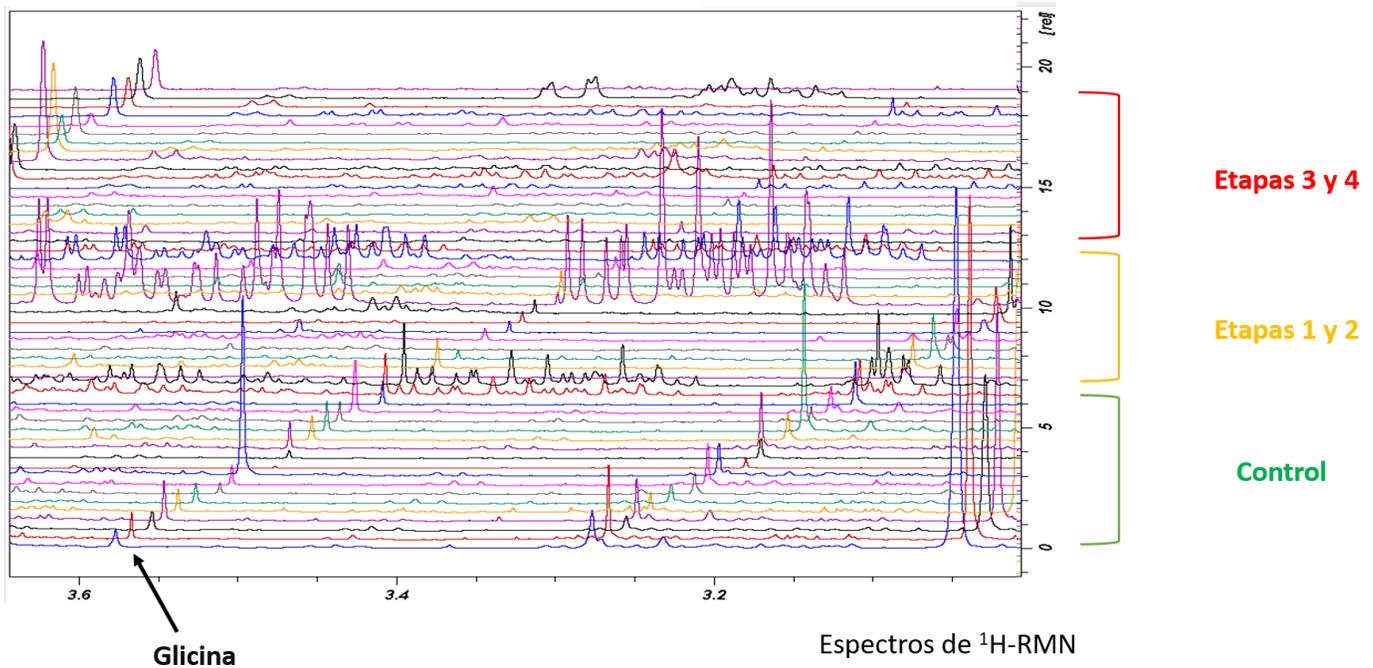
**Figura 9. Perfil metabólico de orina por RMN protónica (400 MHz) de estadios avanzados de ERC, KDIGO 3-4 (n=25)**

A partir de los datos de identificación y cuantificación fue posible determinar metabolitos diferenciales, donde se reconoció que conforme aumenta el grado de daño renal expresado por una TFG menor se disminuye la concentración de los metabolitos identificados como diferenciales entre los grupos de estudio. Entre los metabolitos identificados se encontró citrato, glicina, creatinina, glicolato y formiato.

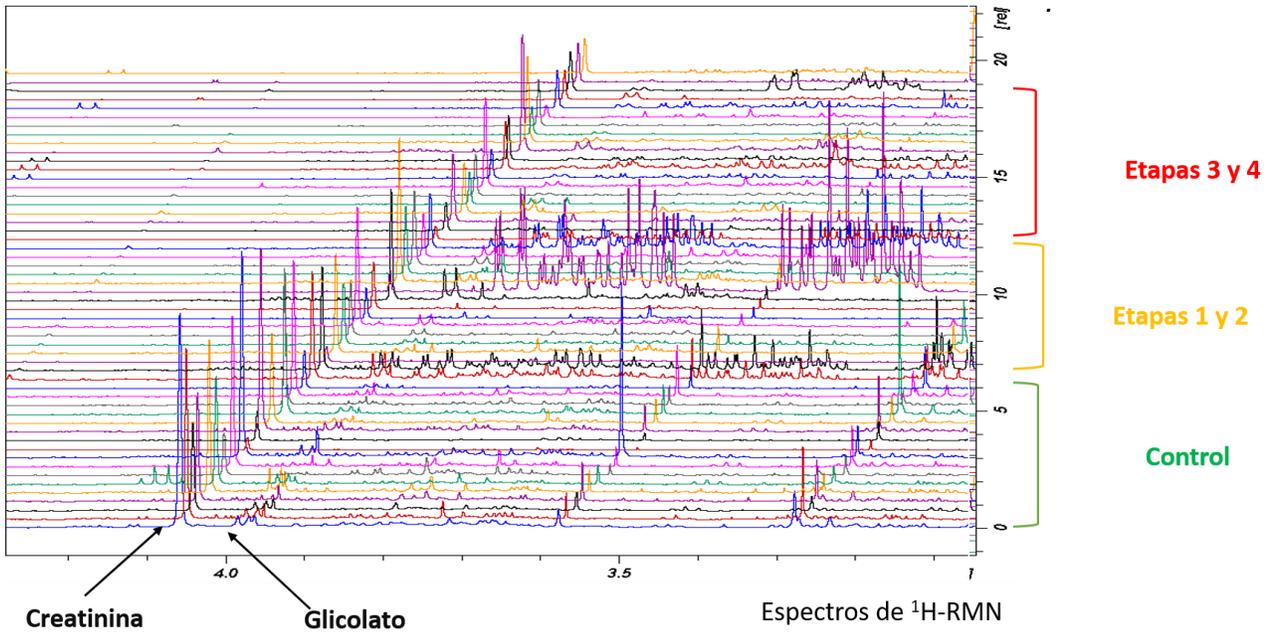
En las figuras 10 a 13 se muestra la sobreposición de los espectros de los distintos grupos en las regiones en donde aparecen los metabolitos antes mencionados.



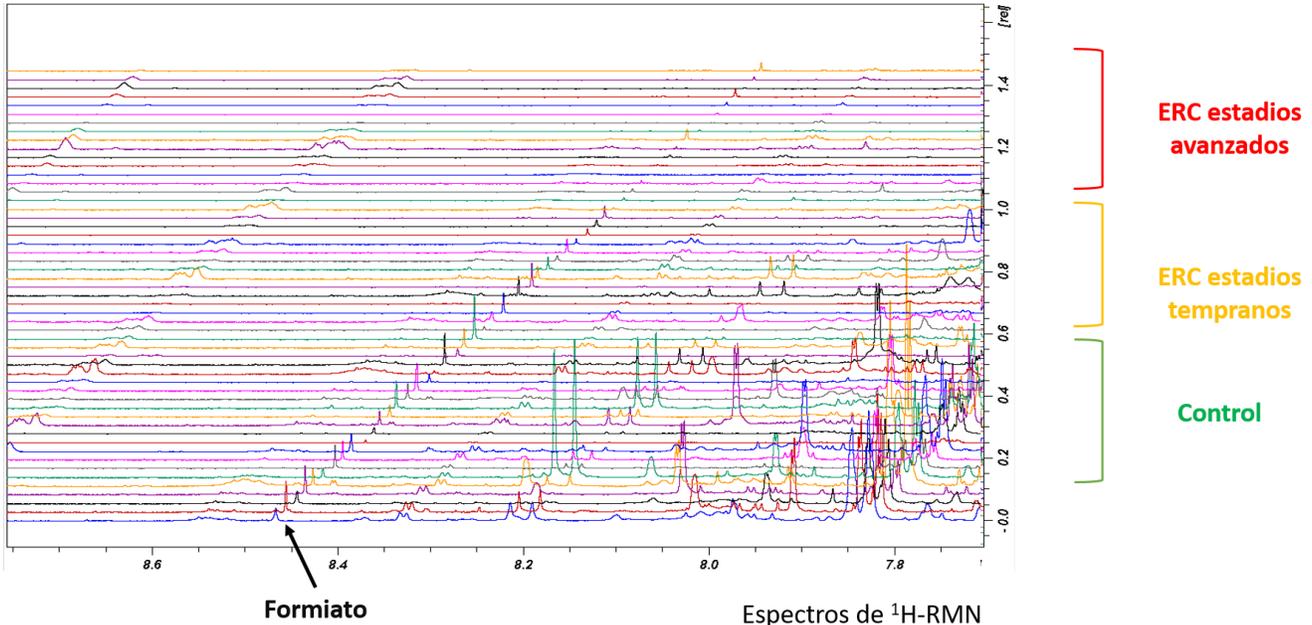
**Figura 10. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: citrato.** A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que las señales del citrato disminuyen conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.



**Figura 11. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: glicina.** A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que la señal de la glicina disminuye conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.



**Figura 12. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: creatinina y glicolato.** A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que las señales de la creatinina y el glicolato disminuyen de intensidad conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.



**Figura 13. Identificación metabolitos diferenciales en los espectros de 1H-RMN de orina: formiato.** A partir de la inspección visual de los espectros, es claro que la señal del formiato disminuye conforme progresa la ERC en los pacientes diabéticos.

## 6.6. Vías metabólicas implicadas

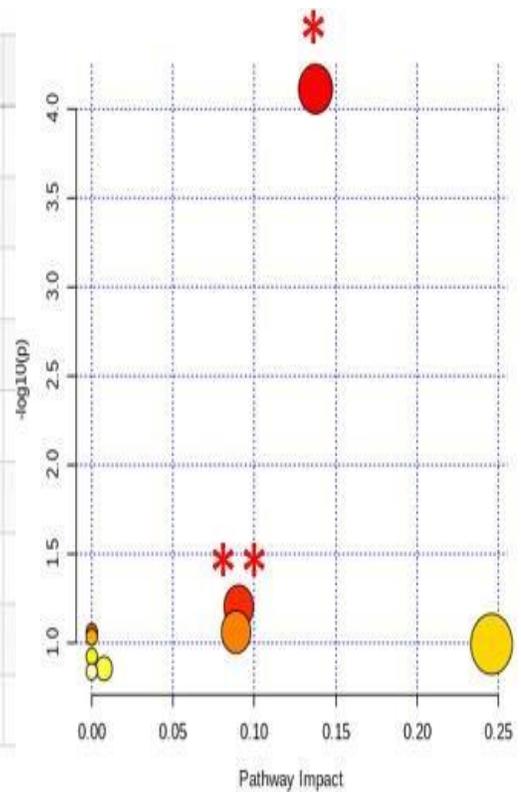
Para establecer las vías metabólicas en las que están involucrados los metabolitos mencionados se utilizó la plataforma MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>) que es de acceso libre.

El uso del módulo de “Pathway Analysis” de MetaboAnalyst permitió a partir de los metabolitos identificados en la orina de los pacientes con nefropatía diabética identificar que la vía del glioxilato en la que están implicados formiato, glicolato y citrato como la de mayor afectación metabólica.

Por otro lado, la vía del citrato por si sola también se ve afectada por las variaciones en su concentración.

En la figura 14 se muestra el gráfico de dispersión de las rutas metabólicas en las que están involucrados los metabolitos encontrados en el presente estudio. El tamaño y color están relacionados con el valor de la significación.

Pathway Name	Match Status	Impact
<a href="#">Glyoxylate and dicarboxylate metabolism</a> *	<a href="#">3/32</a>	0.13757
<a href="#">Citrate cycle (TCA cycle)</a> **	<a href="#">1/20</a>	0.09038
<a href="#">Alanine, aspartate and glutamate metabolism</a>	<a href="#">1/28</a>	0.0
<a href="#">Glutathione metabolism</a>	<a href="#">1/28</a>	0.08873
<a href="#">Porphyrin and chlorophyll metabolism</a>	<a href="#">1/30</a>	0.0
<a href="#">Glycine, serine and threonine metabolism</a>	<a href="#">1/33</a>	0.24577
<a href="#">Fatty acid degradation</a>	<a href="#">1/39</a>	0.0
<a href="#">Primary bile acid biosynthesis</a>	<a href="#">1/46</a>	0.00758
<a href="#">Aminoacyl-tRNA biosynthesis</a>	<a href="#">1/48</a>	0.0



**Figura 14. Vías metabólicas implicadas.**

\* Vía del glioxilato \*\* Vía del citrato

## CAPITULO VII

### DISCUSIÓN

Los marcadores de daño renal como creatinina, Cist-C y microalbuminuria son marcadores que hasta la fecha no permiten diferenciar entre etapas iniciales y sujetos sanos; solo para estadios avanzados.

Por lo anterior los estudios metabólicos han surgido como una estrategia para poder identificar entre sujetos sanos y los estadios tempranos de ERC (21).

En este trabajo se logró identificar a partir del estudio metabólico por RMN a cinco potenciales biomarcadores en orina de progresión de la ERC, entre los cuales se reportaron al citrato, glicina, creatinina, glicolato y formiato.

Con respecto al citrato se ha reportado que sujetos con una TFG disminuida, específicamente, menor a  $60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$  una concentración baja de citrato urinario, la cual disminuía conforme avanza el grado de ERC, probablemente relacionada con condiciones que alteran el pH tubular renal y la acidosis metabólica que se presenta en estos pacientes (22).

Por otro lado, Darshi *et al*, evaluaron una cohorte de 15 pacientes con diversos grados de ERC (incluyendo grado 5) en comparación con sujetos control sin enfermedades o alteraciones en la función renal. Donde validaron 29 metabolitos urinarios obtenidos por cromatografía líquida. En este estudio al igual que nosotros

identificaron al citrato como parte de la firma metabolómica en pacientes que presentaban etapas avanzadas de daño renal. (23)

Otro estudio donde compararon ERC de etiología no diabética en estadios 3 y 4 contra adultos sanos se identificaron 27 metabolitos urinarios y 33 metabolitos plasmáticos alterados en aquellos sujetos con daño renal, y donde el análisis de la vía metabólica afectada reveló que el ciclo del citrato es más afectado significativamente con alteraciones en su excreción por vía urinaria (24). Estos estudios concuerdan con el presente estudio donde también se identificó que la señal del citrato en orina en sujetos sanos es alta, no así en los pacientes con ERC donde va disminuyendo conforme avanza el grado de la ERC.

Con respecto al glicolato, se analizó una cohorte de pacientes con DM2 a la cual se dio seguimiento por 8 años (rango de 2 a 10 años) y se analizó el perfil metabolómico de orina de aquellos con TFG entre 20-70 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, identificándose 13 metabolitos entre los cuales se menciona al: citrato, ácido aconítico, uracilo, hidroxisobutirato y glicolato. Se observó a la vez que aquellos con niveles disminuidos de glicolato en orina se asociaban a mayor incidencia de progresión de ERT (23).

En otro estudio se correlacionaron los niveles disminuidos de glicolato en orina (previamente identificados por cromatografía) con una disminución del volumen cortical e intersticial en biopsias renales correspondiente a lesión estructural por nefropatía diabética (25). La misma asociación fue encontrada en nuestro estudio, donde también se observó una disminución de la concentración de glicolato en orina

al mostrar empeoramiento de la función renal por marcadores bioquímicos y de daño renal.

Referente a la glicina, Ibarra *et al*, compararon individuos con DM2 y sujetos sanos, evidenciando en plasma y orina por análisis con espectrometría de masa una disminución en la concentración de glicina conforme progresa la enfermedad renal (26), lo cual concuerda con los resultados del presente estudio en donde se observó también una disminución del mismo metabolito conforme progresa la enfermedad renal crónica y decae la TFG.

En relación a la creatinina en estudio donde se compararon pacientes con diagnóstico de DM2 versus sujetos sanos se consiguió identificar una disminución de la creatinina en orina en aquellos con enfermedad diagnóstica de DM2 (27). Dentro de los metabolitos identificados la creatinina representa un distractor, ya que es identificada sin necesidad de realizar perfil metabolómico como fue el caso del presente estudio. Por lo cual en los estudios se sugiere utilizar creatinina en conjunto con otros metabolitos para aumentar la exactitud de predicción de biomarcadores de daño renal tempranos (28).

Con respecto al formiato pese a que no hay estudios en humanos que reporten datos del formiato, se identificó un trabajo en primates en los cuales se desarrolló DM2 y posterior nefropatía diabética como consecuencia de hiperglucemias séricas sostenidas (corroborado con biopsia renal); a los cuales se les realizó perfil metabolómico de orina por RMN y encontrando disminución del

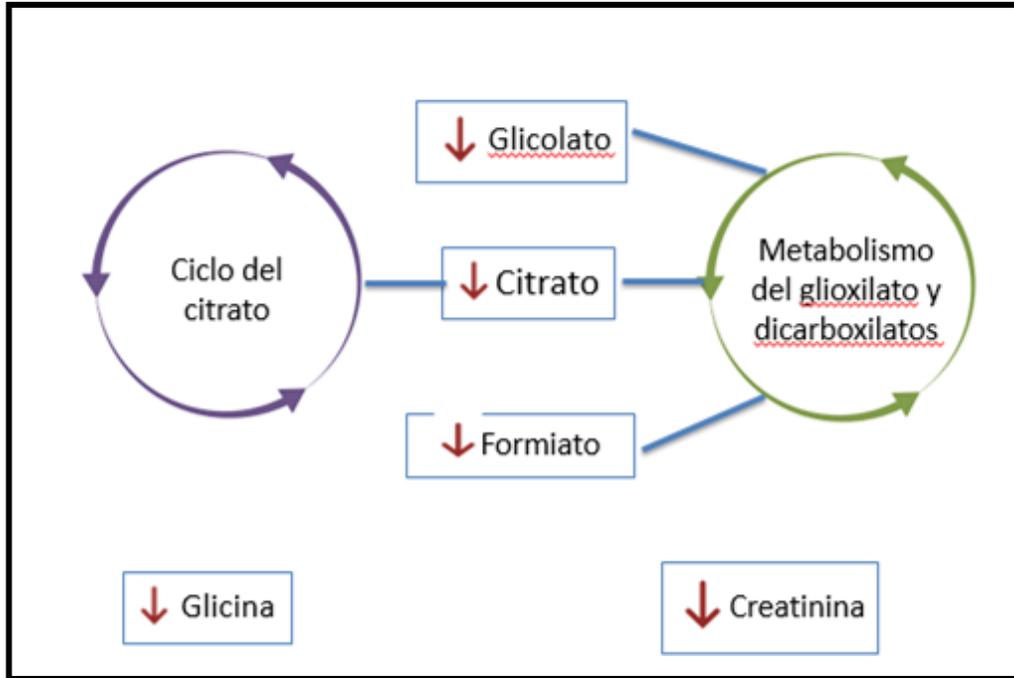
metabolito formiato en orina en aquellos con nefropatía diabética (29), lo cual concuerda con el presente estudio, donde se identificaron niveles bajos de formiato conforme avanza la enfermedad renal y disminuye la TFG.

Conforme a lo antes mencionado, la mayoría de los estudios previos de metabolómica en ERC concuerdan con nuestros hallazgos en la población mexicana evaluada con esta etiología.

Respecto a vías metabólicas afectadas, Darshi *et al* analizaron las vías metabólicas y reportaron que el ciclo del CTA (vía que involucra citrato, aconitato) es de las que tienen mayor significancia (23). En otro estudio, Hallan *et al*, identificaron a la vía del ácido cítrico que involucra excreción urinaria de citrato, cis-aconitato e isocitrato como la de mayor significancia en cuanto alteración en pacientes con ERC (24).

Ambos estudios presentan similitudes con lo encontrado en nuestra población mexicana, donde se observó que la vía mayormente afectada y con significancia es la del glioxilato, recordando que está incluye: citrato, glicolato y formiato además en segundo lugar la vía metabólica del citrato.

En resumen, a través de este estudio se identificó que las vías metabólicas más afectadas en los pacientes diabéticos con ERC fueron la del glioxilato seguida de la del citrato (Figura 15).



**Figura 15. Rutas metabólicas más afectadas en los pacientes diabéticos con ERC.**

## **CAPITULO VIII**

### **CONCLUSIÓN**

Existe un perfil metabólico diferenciado para los diferentes grados de nefropatía diabética que nos permitió identificar a cinco metabolitos urinarios: citrato, glicina, creatinina y formiato, como variables relevantes que indican que la ERC afecta significativamente al metaboloma urinario.

Se identificó que las vías metabólicas más afectadas en diabéticos con ERC fueron la del glioxilato seguida de la del citrato.

## CAPITULO IX

### BIBLIOGRAFÍA

1. Quiroga B, Rodríguez-Palomares JR, de Arriba G. Insuficiencia renal crónica. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2015;11(81):4860–7. Available from: <https://www.medicineonline.es/es-insuficiencia-renal-cronica-articulo-S0304541215001481>
2. Ckd DOF, Graded N. Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl.* 2013;3(1):19–62.
3. Andrassy KM. Comments on “KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.” *Kidney Int.* 2013;84(3):622–3.
4. Base E. Chapter 2: Definition, identification, and prediction of CKD progression. *Kidney Int Suppl.* 2013;3(1):63–72.
5. Ichikawa D, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Ohata K, Hisamichi M, Hoshino S, et al. Utility of urinary tubular markers for monitoring chronic tubulointerstitial injury after ischemia–reperfusion. *Nephrology* [Internet]. 2018;23(4):308–16. Available from: <https://doi.org/10.1111/nep.12998>

6. Inker LA, Levey AS, Coresh J. Estimated Glomerular Filtration Rate From a Panel of Filtration Markers—Hope for Increased Accuracy Beyond Measured Glomerular Filtration Rate? *Adv Chronic Kidney Dis* [Internet]. 2018;25(1):67–75. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2017.10.004>
7. Satirapoj B. Tubulointerstitial Biomarkers for Diabetic Nephropathy. Martinez Salgado C, editor. *J Diabetes Res* [Internet]. 2018;2018:2852398. Available from: <https://doi.org/10.1155/2018/2852398>
8. García B, Muñoz H, de Oliveira O. Principales resultados. Hogares y Trab en la Ciudad México. 2018;170–3.
9. Méndez-Durán A, Pérez-Aguilar G, Ayala-Ayala F, Ruiz-Rosas RA, González-Izquierdo J de J, Dávila-Torres J. Panorama epidemiológico de la insuficiencia renal crónica en el segundo nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Diálisis y Traspl* [Internet]. 2014;35(4):148–56. Available from: <https://www.elsevier.es/en-revista-dialisis-trasplante-275-articulo-panorama-epidemiologico-insuficiencia-renal-cronica-S1886284514001726>
10. Zenteno-Castillo P, Muñoz-López DB, Merino-Reyes B, Vega-Sánchez Á, Preciado-Puga M, González-Yebra AL, et al. Prevalence of diabetic nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus in rural communities of Guanajuato, Mexico. Effect after 6 months of Telmisartan treatment. *J Clin Transl Endocrinol* [Internet]. 2015;2(4):125–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcte.2015.08.001>

11. García-García G, Harden P, Chapman J, Abraham G, Beerkens P, Chapman JR, et al. The global role of kidney transplantation. *Nefrologia*. 2012;32(1):1–6.
12. CENATRA. Boletín Estadístico Informático. Centro Nacional de Trasplantes. Bei-Cenatra. 2019;(4):71.
13. López-Cervantes, M., Rojas-Russell, M. E., Tirado-Gómez, L. L., Durán-Arenas, L., Pacheco-Domínguez, R. L., Venado-Estrada, A. A., & Rodríguez-Alvarado M. Enfermedad renal crónica y su atención mediante tratamiento sustitutivo en México. 2009;4(1):64–75.
14. Emwas AHM, Salek RM, Griffin JL, Merzaban J. NMR-based metabolomics in human disease diagnosis: Applications, limitations, and recommendations. *Metabolomics*. 2013;9(5):1048–72.
15. Qi S, Ouyang X, Wang L, Peng W, Wen J, Dai Y. A Pilot Metabolic Profiling Study in Serum of Patients with Chronic Kidney Disease Based on <sup>1</sup>H-NMR-Spectroscopy. *Clin Transl Sci* [Internet]. 2012;5(5):379–85. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1752-8062.2012.00437.x>
16. Nkuipou-Kenfack E, Durantou F, Gayraud N, Argilés À, Lundin U, Weinberger KM, et al. Assessment of metabolomic and proteomic biomarkers in detection and prognosis of progression of renal function in chronic kidney disease. *PLoS One*. 2014;9(5).
17. Lee J, Choi JY, Kwon YK, Lee D, Jung HY, Ryu HM, et al. Changes in serum

metabolites with the stage of chronic kidney disease: Comparison of diabetes and non-diabetes. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2016;459:123–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2016.05.018>

18. Niewczas MA, Mathew A V., Croall S, Byun J, Major M, Sabisetti VS, et al. Circulating modified metabolites and a risk of ESRD in patients with type 1 diabetes and chronic kidney disease. *Diabetes Care*. 2017;40(3):383–90.
19. OPS/OMS | La OPS/OMS y la Sociedad Latinoamericana de Nefrología llaman a prevenir la enfermedad renal y a mejorar el acceso al tratamiento [Internet]. Available from: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10542:2015-opsoms-sociedad-latinoamericana-nefrologia-enfermedad-renal-mejorar-tratamiento&Itemid=1926&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10542:2015-opsoms-sociedad-latinoamericana-nefrologia-enfermedad-renal-mejorar-tratamiento&Itemid=1926&lang=es)
20. Encuesta Intercensal 2015 [Internet]. Available from: <https://www.inegi.org.mx/programas/intercensal/2015/>
21. Cordero Pérez et al Nefrología 2020.pdf.
22. Luck M, Bertho G, Bateson M, Karras A, Yartseva A, Thervet E, et al. Rule-mining for the early prediction of chronic kidney disease based on metabolomics and multi-source data. *PLoS One*. 2016;11(11):1–20.
23. Kwan B, Fuhrer T, Zhang J, Darshi M, Van Espen B, Montemayor D, et al. Metabolomic Markers of Kidney Function Decline in Patients With Diabetes: Evidence From the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J*

Kidney Dis. 2020;76(4):511–20.

24. Hallan S, Afkarian M, Zelnick LR, Kestenbaum B, Sharma S, Saito R, et al. Metabolomics and Gene Expression Analysis Reveal Down-regulation of the Citric Acid (TCA) Cycle in Non-diabetic CKD Patients. *EBioMedicine* [Internet]. 2017;26:68–77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.10.027>
25. Saulnier P-J, Darshi M, Wheelock KM, Looker HC, Fufaa GD, Knowler WC, et al. Urine metabolites are associated with glomerular lesions in type 2 diabetes. *Metabolomics* [Internet]. 2018;14(6):84. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1380-6>
26. Ibarra-González I, Cruz-Bautista I, Bello-Chavolla OY, Vela-Amieva M, Pallares-Méndez R, Ruiz de Santiago Y Nevarez D, et al. Optimization of kidney dysfunction prediction in diabetic kidney disease using targeted metabolomics. *Acta Diabetol* [Internet]. 2018;55(11):1151–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00592-018-1213-0>
27. A metabolomic comparison of urinary changes in type 2 diabetes in mouse, rat, and human \_ Enhanced Reader.pdf.
28. Benito S, Sánchez-Ortega A, Unceta N, Jansen JJ, Postma G, Andrade F, et al. Plasma biomarker discovery for early chronic kidney disease diagnosis based on chemometric approaches using LC-QTOF targeted metabolomics data. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2018;149:46–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.10.036>

29. Liu J, Wang D, Chen Y, Sun H, He S, Wang C, et al. <sup>1</sup>H NMR-based metabonomic analysis of serum and urine in a nonhuman primate model of diabetic nephropathy. *Mol Biosyst.* 2013;9(11):2645–52.

# CAPITULO X

## ANEXOS



### HISTORIAL CLÍNICO

#### FICHA DE IDENTIFICACIÓN

NOMBRE: \_\_\_\_\_  
EDAD: \_\_\_\_\_ FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_  
ESCOLARIDAD: \_\_\_\_\_ RESIDENCIA: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

HISTORIAL DE DIABETES MELLITUS: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ TIPO \_\_\_\_\_  
OTRAS ENFERMEDADES CRÓNICODEGENERATIVAS: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICAS

TABAQUISMO: ACTIVO \_\_\_\_\_ INACTIVO \_\_\_\_\_ PAQ/AÑO \_\_\_\_\_  
ALCOHOL: ACTIVO \_\_\_\_\_ INACTIVO \_\_\_\_\_ GRAMOS/SEMAVA \_\_\_\_\_  
TOXICOMANÍAS: \_\_\_\_\_ ÚLTIMO CONSUMO \_\_\_\_\_  
USO DE HERBOLARIA: SI \_\_\_\_\_ TIPO \_\_\_\_\_ ÚLTIMO CONSUMO \_\_\_\_\_  
INICIO DE VIDA SEXUAL ACTIVA: \_\_\_\_\_ años No. PAREJAS SEXUALES: \_\_\_\_\_

Parte 1. Hoja de captura de pacientes con DM2 y sujetos control.

**ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS**

ALERGIAS: \_\_\_\_\_  
CIRUGÍAS: \_\_\_\_\_  
FRACTURAS: \_\_\_\_\_  
ENFERMEDADES CRÓNICODEGENERATIVAS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
MEDICAMENTOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**HISTORIA DE DIABETES MELLITUS**

AÑO DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_ TIEMPO EVOLUCIÓN: \_\_\_\_\_ EDAD AL DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_  
TRATAMIENTO INICIAL: \_\_\_\_\_  
TRATAMIENTO ACTUAL: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
REVISIÓN OFTALMOLÓGICA: SI NO FECHA RESULTADO  
NEUROPATÍA: \_\_\_\_\_  
DIAGNÓSTICO NEFROPATÍA: \_\_\_\_\_

**SOMATOMETRÍA**

PESO: \_\_\_\_\_ TALLA: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_  
PRESIÓN ARTERIAL: SISTÓLICA \_\_\_\_\_ DIASTÓLICA \_\_\_\_\_  
FRECUENCIA CARDÍACA: \_\_\_\_\_ /pm FRECUENCIA RESPIRATORIA: \_\_\_\_\_ /rpm

**Parte 2.** Hoja de captura de pacientes con DM2 y sujetos control.

## CAPITULO XI

### RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Iris Camelia Farías Navarro

Candidato para el grado de

Especialista en Medicina Interna

**Tema:** PERFIL METABOLÓMICO POR RMN DE PACIENTES CON  
NEFROPATÍA DIABÉTICA EN ETAPAS AVANZADAS

**Campo de estudio:** Ciencias de la Salud

#### **BIOGRAFÍA:**

**Datos personales:** Nacida en la Ciudad de Río Bravo, Tamaulipas el 21 de abril de 1991: hija de Seferino Farías Miranda y Camelia Navarro Pedraza.

**Educación:** Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido de Médico Cirujano y Partero en el 2015.

**Experiencia profesional:** Residente de Medicina Interna del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, desde el año 2017.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



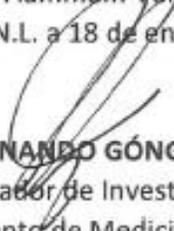
FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

**DR. med. FERNANDO MONTES TAPIA**  
Secretario Académico del Área Clínica  
Presente.-

Por medio de la presente hago constar que la tesis titulada "Perfil Metabólico de Orina por RMN de Pacientes con Nefropatía Diabética en Etapas Avanzadas" cuyo autor es el Dra. Iris Camelia Farías Navarro del programa "Especialidad de Medicina Interna", ha sido revisada por el programa Turnitin, encontrando un 14% de similitud y después de la interpretación de los datos se ha llegado a la conclusión que no existe evidencia de plagio de la tesis.

Quedó a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Atentamente  
"Alere Flammam Veritatis"  
Monterrey, N.L. a 18 de enero de 2021

  
**DR. JUAN FERNANDO GÓNGORA RIVERA**  
Coordinador de Investigación  
Departamento de Medicina Interna

c.c.p Jefe del Departamento de Jefatura de Medicina Interna (Dr. med. Homero Nañez Terreros)  
c.c.p. Jefe del Programa de Enseñanza de Posgrado de Medicina Interna (Dr. Francisco Moreno Hoyos)



Depto. de  
Medicina Interna

# E\_PACIENTES\_CON\_NEFROPAT\_A\_DIAB\_TICA\_EN\_ETAPA..

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

3%

★ docplayer.es

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 5 words

Excluir bibliografía

Activo