



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**

**UNIDAD ACADÉMICA**

**FACULTAD DE BIOLOGÍA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Efecto de alteraciones metabólicas en la carga eléctrica superficial de eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.**

**Tesis que presenta:**

I.Q. Lidia Lizbeth Hernández Cubas

**Para obtener el grado de Maestría en Ciencias Biológicas**

**Director(s) de tesis:**

Dra. Carmen Lucía Moraila Martínez  
Dra. Carla Ernestina Angulo Rojo

**Asesores de tesis:**

Dra. Alma Marlene Guadrón Llanos  
Dr. Vicente Olimón Andalón  
Dr. José Geovanni Romero Quintana



**Culiacán Sinaloa, Julio 2022**



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, por su apoyo incondicional, sus palabras de motivación y el amor que me han brindado siempre. A ellos les debo todo lo que soy, por su presencia en mi formación como persona, por la capacidad de inspirarme a ser mi mejor versión cada día, gracias infinitas por ser mi guía.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante el programa, por lo que fue posible terminar el proceso de la maestría. Al programa de la Maestría de en Ciencias Biológicas de la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por permitirme formar parte de esta institución. Un agradecimiento muy profundo a mis directoras, Dra. Carmen Moraila y Dra. Carla Angulo, por su apoyo incondicional, dedicación, paciencia, experiencia, sus consejos y en general por despertar en mí el interés por el mundo de la ciencia. Tenerlas como directoras siempre será un gran privilegio. Mi agradecimiento infinito por todo lo aprendido con ustedes, y los momentos compartidos.

A mi comité tutorial. Dr. Geovanni Romero Quintana y Dr. Vicente Olimón Andalón, por su apoyo y mejorías a lo largo de este proceso y cuyas observaciones siempre fueron valiosas en mi proceso de aprendizaje. A la Dra. Alma Guadrón por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por sus enseñanzas, su capacidad de sacarnos una sonrisa y sobre todo por su amistad. A mis compañeros de laboratorio, por los momentos compartidos, no pude haber tenido mejores compañeros de trabajo, siempre nos las arreglábamos para disfrutar de un café, gracias por su amistad. A mis compañeras de Maestría, Denice Gerardo y Laura Delgado, gracias por su compañerismo y los momentos compartidos en este proceso.

A mis hermanos, gracias infinitas por su apoyo, por los momentos compartidos y por estar presentes en cada etapa de mi vida, siempre estaré agradecida por tenerlos como hermanos, no sé qué sería de mí sin su apoyo, las risas y los momentos compartidos que, sin duda alguna, llenan el alma, ustedes son mi inspiración y la razón por la que intento ser mejor persona.

A mis amigas por compartir mis logros, mis momentos de debilidad y sobre todo por los momentos que hemos vivido, a mi prima que ha sido como una hermana para mí, gracias por ser parte de este proceso.

A los amigos que he conocido en los últimos meses, que me han apoyado en este proceso, con sus palabras y por la oportunidad de ver el mundo desde otras perspectivas, por motivarme a seguir trabajando en mis objetivos, por recordarme lo valioso de los momentos compartidos y por enseñarme que todo es posible si te esfuerzas para lograrlo.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>8</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>12</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>13</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>14</b>
<b>I.INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>16</b>
<b>II.ANTECEDENTES</b> .....	<b>18</b>
<b>2.1 Diabetes Mellitus</b> .....	<b>18</b>
<b>2.2 Diabetes mellitus tipo 2</b> .....	<b>19</b>
2.2.1 Epidemiología.....	19
2.2.2 Fisiopatología .....	20
<b>2.3 Tejidos afectados en Diabetes Mellitus Tipo 2</b> .....	<b>21</b>
2.3.1 Tejido sanguíneo .....	21
3.3.2 Composición del tejido sanguíneo.....	22
<b>2.4 Eritrocitos</b> .....	<b>23</b>
2.4.1 características de los eritrocitos.....	23
<b>2.5 Diabetes y su repercusión en los eritrocitos</b> .....	<b>25</b>
2.5.1 Alteraciones del glóbulo rojo en la diabetes.....	25
<b>2.6 Fenómenos electrocinéticos</b> .....	<b>28</b>
2.6.1 Sistemas coloidales.....	28
2.6.2 Propiedades de los coloides.....	30

<b>2.7 Potencial eléctrico .....</b>	<b>30</b>
2.7.1 Teoría de la doble capa eléctrica .....	31
2.7.2 Teoría de la doble capa eléctrica y Potencial Zeta .....	32
2.7.3 Potencial zeta.....	33
2.7.4 Movilidad electroforética .....	35
<b>2.8 Potencial electroquímico de eritrocitos.....</b>	<b>36</b>
2.8.1 Potencial Zeta en la membrana de eritrocitos.....	37
<b>2.9 Comportamiento reológico y eléctrico de los eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus.....</b>	<b>40</b>
<b>2.10 Cambios en la estructura de la membrana de los glóbulos rojos en la diabetes tipo 2: un estudio de microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica .....</b>	<b>41</b>
<b>2.11 Aspectos fisicoquímicos del eritrocito infectado por Plasmodium Chabaudi.....</b>	<b>41</b>
<b>2.12 La micropolaridad de la membrana de los glóbulos rojos como un nuevo indicador de diagnóstico de la diabetes tipo 1 y tipo 2.....</b>	<b>42</b>
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>44</b>
<b>IV. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>45</b>
<b>VI. HIPÓTESIS .....</b>	<b>46</b>
<b>V. OBJETIVOS .....</b>	<b>47</b>
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>48</b>
<b>6.1 Tipo y población de estudio .....</b>	<b>48</b>
6.1.1 Tipo de estudio .....	48

<b>6.1.2 Población de estudio .....</b>	<b>48</b>
<b>6.2 Consideraciones éticas.....</b>	<b>48</b>
<b>6.3 Criterios de Selección .....</b>	<b>49</b>
6.3.1 Criterios de Inclusión y exclusión de acuerdo con el grupo.....	49
6.3.2 Criterios de eliminación.....	49
<b>6.4 Diseño experimental .....</b>	<b>50</b>
<b>6.5 Metodología.....</b>	<b>51</b>
6.5.1 Historia Clínica.....	51
6.5.2 Evaluación antropométrica .....	51
6.5.3 Toma de muestra de sangre y análisis bioquímico .....	51
6.5.4 Evaluación de Síndrome Metabólico (SM). .....	52
6.5.6 Determinación de la movilidad electroforética. ....	52
<b>6.7 Análisis estadístico.....</b>	<b>55</b>
<b>VII. LUGAR DE REALIZACION .....</b>	<b>56</b>
<b>VIII. FINANCIAMIENTO.....</b>	<b>57</b>
<b>IX. RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>9.1 Población de estudio .....</b>	<b>58</b>
<b>9.2 Caracterización de las alteraciones metabólicas presentes en la población con DMT2.....</b>	<b>58</b>
<b>9.3 Características antropométricas de la población de estudio .....</b>	<b>59</b>

<b>9.4 Características bioquímicas de la población de estudio.....</b>	<b>60</b>
<b>9.5 Mediciones de la carga eléctrica (potencial zeta) superficial de los eritrocitos en la población control y en pacientes con DMT2 .....</b>	<b>62</b>
<b>9.6 Análisis del efecto de las alteraciones metabólicas presentes en la población con DMT2 sobre la carga eléctrica superficial de los eritrocitos .....</b>	<b>64</b>
<b>X. DISCUSIÓN .....</b>	<b>68</b>
<b>XI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>71</b>
<b>XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS .....</b>	<b>72</b>
<b>XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....</b>	<b>76</b>
<b>XIV. ANEXOS .....</b>	<b>77</b>
<b>Anexo 1: Carta de consentimiento informado .....</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Diez primeros países por cantidad de adultos (20-79 años) con diabetes mellitus.	20
Tabla2	Características antropométricas de la población de estudio.	59
Tabla 3	Análisis de perfil lipídico de los grupos de estudio.	61
Tabla 4	Análisis de perfil glucémico de los grupos estudiados.	62
Tabla 5	Análisis de correlación de los valores de ZP con las variables metabólicas.	66
Tabla 6	Análisis de correlación entre los valores de Potencial Zeta con parámetros de Biometría Hemática	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Criterios de diagnóstico modificados para la diabetes	18
Figura 2 Membrana de glóbulos rojos	24
Figura 3 Representación esquemática de las escalas de diferentes partículas.	28
Figura 4 Representación simple de la doble capa eléctrica	29
Figura 5 Dos maneras de visualizar la doble capa	32
Figura 6 Capa difusa	34
Figura 7 Representación esquemática del potencial zeta	37
Figura 8 Análisis de potencial zeta	38
Figura 9 Micropolaridad de membrana de eritrocitos	43
Figura 10 Estrategia experimental	50
Figura 11 Zetámetro 3.0+	52
Figura 12 Montaje experimental del Zetámetro	55
Figura 13 Potencial Zeta de los diferentes grupos de estudio	63

## **RESUMEN**

La carga eléctrica en cualquier superficie biológica juega un papel crucial en su interacción con otras moléculas o superficies. El estado eléctrico de la superficie de los eritrocitos es una característica del perfil molecular y la disposición bidimensional de las moléculas portadoras de carga. Se ha reportado que en los pacientes diabéticos hay modificaciones en la estructura de los glóbulos rojos. Las variables metabólicas afectadas en presencia de Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), como altas concentraciones de glucosa en sangre (hiperglucemia), indicador de diabetes, valores elevados de colesterol y triglicéridos afectan a los eritrocitos al ser las células más abundantes en la circulación y las primeras en percibir cambios en la composición del plasma. Estos cambios pueden afectar la estructura y función de los eritrocitos. En este trabajo se analizó el estado eléctrico de eritrocitos, en individuos control (CTRL) y en pacientes con DMT2 utilizando un equipo Zetámetro. Los valores obtenidos de las mediciones de potencial zeta (ZP) se compararon entre los grupos de estudio encontrando que hay diferencias significativas, para el grupo DMT2 las células tienen un comportamiento de potencial zeta superficial más alto respecto al grupo CTRL.

Palabras clave: Eritrocitos, Sangre, Potencial Zeta, Hiperglucemia, Diabetes Mellitus Tipo 2.

## **ABSTRACT**

The electrical charge on any biological surface plays a crucial role in its interaction with other molecules or surfaces. The electrical state of the red blood cell surface is a feature of the molecular profile and the two-dimensional arrangement of charge-carrying molecules. It has been reported that in diabetic patients there are changes in the structure of red blood cells. The metabolic variables affected in the presence of Type 2 Diabetes Mellitus (DMT2), such as high blood glucose concentrations (hyperglycemia), an indicator of diabetes, high cholesterol and triglyceride values, affect erythrocytes because they are the most abundant cells in the circulation and the first to perceive changes in plasma composition. These changes can affect the structure and function of red blood cells. In this work, the electrical state of erythrocytes in patients with DMT2 was analyzed and the values obtained from the zeta potential (ZP) measurements were compared using a Zetameter equipment. The values obtained from the zeta potential (ZP) measurements were compared between the study groups finding that there are significant differences, for DMT2 group, cells have higher surface zeta potential behavior compared to CTRL group.

Keywords: Erythrocytes, Blood, Zeta Potential, Hyperglycemia, Type 2 Diabetes Mellitus.

## I. INTRODUCCIÓN

La incidencia y prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) se ha reportado en hasta un 90% de los casos totales de diabetes. La Organización Mundial de la Salud ha predicho que para el año 2025 habrá más de 300 millones de diabéticos en el mundo (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2019). Ante estas alarmantes cifras, el diagnóstico oportuno y el estudio del tratamiento de la Diabetes se han convertido en el foco de diversas investigaciones.

Cuando el organismo es incapaz de controlar la cantidad de glucosa en el torrente sanguíneo, aparece la DMT2, se puede definir a esta enfermedad como una afección endocrina que consiste en una deficiencia o resistencia a la insulina, produciendo hiperglucemia crónica, esta situación conlleva a la alteración de parámetros como los niveles de proteínas plasmáticas, los niveles de hematocritos, la cambios eritrocitarios como la agregación y la deformabilidad (López, 2020).

La hiperglucemia crónica en pacientes con diabetes se asocia con daño y disfunción a largo plazo de diferentes órganos, particularmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

La sangre es un tejido fluido cuya función es transportar oxígeno y nutrientes a todas las partes del cuerpo para que puedan seguir funcionando. Los eritrocitos son los encargados de llevar el oxígeno a los diferentes tejidos y órganos en el organismo. En presencia de hiperglucemia, la morfología, el metabolismo y la función de los eritrocitos están sujetos a una serie de cambios que afectan a la hemorreología y la circulación. El transporte de oxígeno depende de la homeostasis en el número de eritrocitos y de la salud fisiológica de los mismos. La generación cíclica de eritrocitos se realiza mediante el proceso de eritropoyesis, el cual es inducido por la eritropoyetina (EPO), mecanismo que puede ser afectado en un contexto de hiperglucemia crónica (Deray et al., 2004).

Cuando los niveles de glucosa en sangre son elevados, los eritrocitos y las plaquetas presentan en su interior una serie de fenómenos fisiopatológicos, como la glicación de proteínas, aumento en la producción de radicales libres, disminución de producción de prostaciclina y, mayor actividad de la proteína cinasa y la glicación de proteínas, provocando la disfunción endotelial (Calverley, Baldermann, Moran, Chen, & Mcfann, 2006).

Por ello es necesario estudiar cómo las alteraciones metabólicas en pacientes con DMT2 afectan las propiedades fisicoquímicas de los eritrocitos, como la carga eléctrica superficial de estas

células. El potencial electroquímico de la membrana es una característica del perfil molecular de la membrana celular y la disposición bidimensional de sus moléculas portadoras de carga. El potencial eléctrico puede ser modificado por el ambiente molecular y refleja los cambios metabólicos a los que se han enfrentado o enfrentan los eritrocitos en su ambiente circulante, en como lo es la DMT2. Teniendo en cuenta que la exposición crónica a la glucosa afecta a los eritrocitos, surge la necesidad de responder a las preguntas; ¿Cuál es la relación de los cambios que ocurren en el potencial eléctrico de los eritrocitos y la progresión de la DMT2? ¿Qué importancia tienen estos cambios eléctricos en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de la DMT2?.

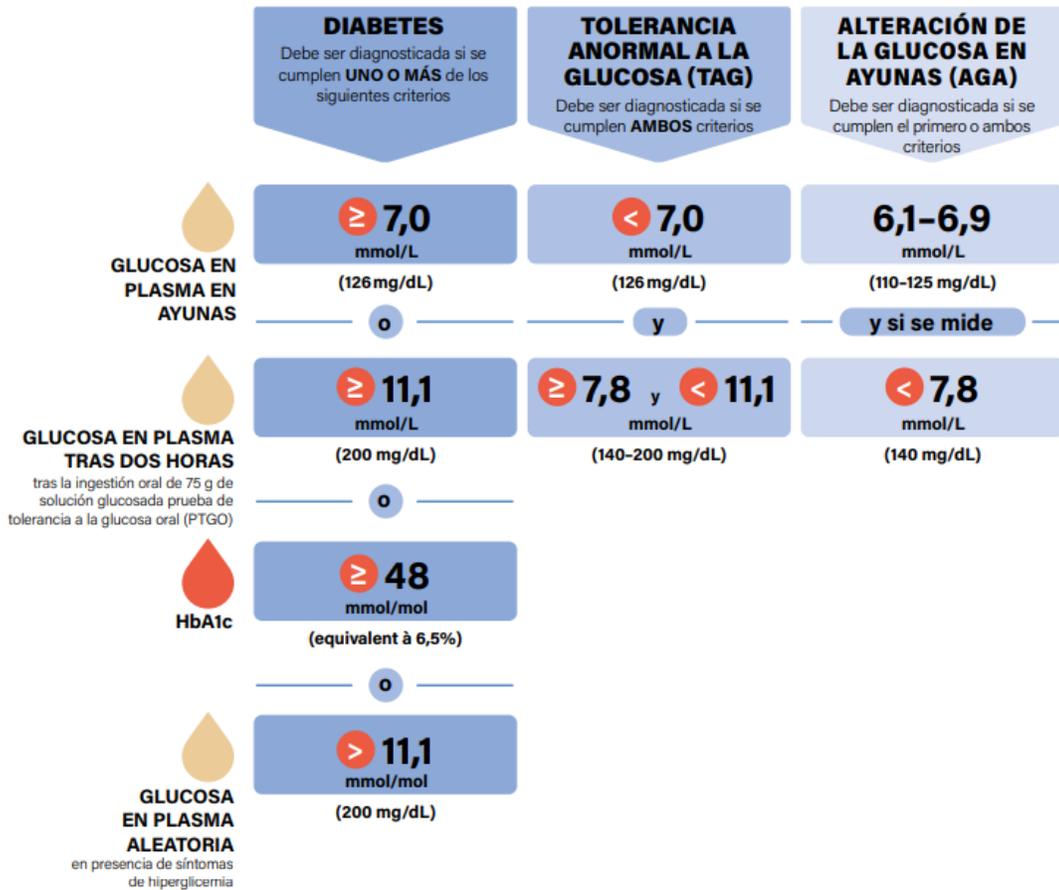
A pesar de los avances en la tecnología médica y la extensa investigación sobre la diabetes, aún hay muchas interrogantes sobre las complicaciones y los parámetros fisicoquímicos alterados en presencia de esta enfermedad, además, sigue siendo una enfermedad metabólica que persiste durante toda la vida, cuya aparición y complicaciones han aumentado drásticamente los últimos años. En este estudio, se analiza el potencial eléctrico superficial de los eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus, como parámetro fundamental de las propiedades fisicoquímicas de la sangre, que proporciona información sobre la relación de las alteraciones metabólicas de la diabetes y el cambio en los fenómenos físicos a nivel molecular en contexto de DMT2, este estudio aporta información valiosa para futuras investigaciones al enfoque de nuevos indicadores para el diagnóstico o estado de la diabetes, así como el progreso del tratamiento de la patología.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que se presenta cuando los niveles de glucosa en la sangre son altos porque el cuerpo no puede producir insulina o cuando no puede utilizar de manera eficaz la insulina que produce.

La insulina es una hormona indispensable producida en el páncreas. Es la encargada en permitir que la glucosa de la sangre ingrese en las células del cuerpo, para convertirse en energía. La insulina, es primordial para el metabolismo de las proteínas y las grasas. La falta de insulina o la incapacidad de las células para responder a ella deriva en altos niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia), el cual es un indicador clínico de la diabetes (Atlas de la Diabetes de la FID, 2019). Los niveles umbral para el diagnóstico de la diabetes se encuentran en la Figura 1.



**Figura 1:** Criterios de diagnóstico modificados para la diabetes (Atlas de la Diabetes de la FID, 2019).

## **2.2 Diabetes mellitus tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 es ocasionada por factores como el sobrepeso, obesidad, edad, origen étnico y los antecedentes familiares. La hiperglucemia en la DMT2 en sus inicios es el resultado de la incapacidad de las células del cuerpo de responder totalmente a la insulina, lo que se conoce como “resistencia a la insulina”. Esta condición donde la insulina no es eficaz conlleva al aumento en su producción, ya que las células beta pancreáticas no cumplen con la demanda. La DMT2 se presenta en adultos mayores más frecuentemente, sin embargo, en los últimos años las cifras en niños y adultos jóvenes van en aumento, principalmente por los hábitos de alimentación y sedentarismo (Atlas de la Diabetes de la FID, 2019).

### **2.2.1 Epidemiología.**

La diabetes mellitus representa un importante desafío para la salud pública, debido a la prevalencia en continuo crecimiento. La forma más común de diabetes mellitus está representada por el tipo 2 (hasta un 91% en países de ingresos altos). En los países de renta alta hasta un 91% de adultos con la enfermedad tienen diabetes tipo 2.

De acuerdo con la federación internacional de diabetes (FID), se estima que al 2019, 463 millones de personas en el mundo padecen esta enfermedad, se ha proyectado que esta cifra aumente a 578 millones en 2030 y a 700 millones para 2045. Se estima que el costo económico mundial para la diabetes en 2019 fue de 760 mil millones de dólares México se encuentra en el sexto lugar dentro de los primeros 10 países con personas diabéticas de 20 a 79 años, con un total de 12.8 millones en 2019 y con incremento estimado para el 2045 a 22.3 millones (Cuadro 1) (FID DA, 2019).

2019			2030			2045		
Orden	País o territorio	Cantidad de personas con diabetes (en millones)	Orden	País o territorio	Cantidad de personas con diabetes (en millones)	Orden	País o territorio	Cantidad de personas con diabetes (en millones)
1	China	116,4 (108,6-145,7)	1	China	140,5 (130,3-172,3)	1	China	147,2 (134,7-176,2)
2	India	77,0 (62,4-96,4)	2	India	101,0 (81,6-125,6)	2	India	134,2 (108,5-165,7)
3	Estados Unidos	31,0 (26,7-35,8)	3	Estados Unidos	34,4 (29,7-39,8)	3	Pakistán	37,1 (15,8-58,5)
4	Pakistán	19,4 (7,9-30,4)	4	Pakistán	26,2 (10,9-41,4)	4	Estados Unidos	36,0 (31,0-41,6)
5	Brasil	16,8 (15,0-18,7)	5	Brasil	21,5 (19,3-24,0)	5	Brasil	26,0 (23,2-28,7)
6	México	12,8 (7,2-15,4)	6	México	17,2 (9,7-20,6)	6	México	22,3 (12,7-26,8)
7	Indonesia	10,7 (9,2-11,5)	7	Indonesia	13,7 (11,9-14,9)	7	Egipto	16,9 (9,0-19,4)
8	Alemania	9,5 (7,8-10,6)	8	Egipto	11,9 (6,4-13,5)	8	Indonesia	16,6 (14,6-18,2)
9	Egipto	8,9 (4,8-10,1)	9	Bangladesh	11,4 (9,4-14,4)	9	Bangladesh	15,0 (12,4-18,9)
10	Bangladesh	8,4 (7,0-10,7)	10	Alemania	10,1 (8,4-11,3)	10	Turquía	10,4 (7,4-13,3)

**Tabla 1.** Diez primeros países por cantidad de adultos (20-79 años) con diabetes en 2019, 2030 y 2045. (Obtenido del Atlas de la Federación Internacional de Diabetes 2019, 9na edición, FID 2019. Bruselas, Bélgica).

## 2.2.2 Fisiopatología

La DM2 representa más del 90% de los casos de DM en general, es comúnmente asociada al síndrome metabólico y la obesidad (Thomas & Philipson, 2015). El desarrollo de la diabetes está relacionado con procesos como la disfunción de las células beta pancreáticas y resistencia a la insulina. La acción deficiente de la insulina resulta de una secreción inadecuada de insulina y/o respuestas tisulares disminuidas a la insulina en uno o más puntos de las complejas vías de acción de la hormona. El deterioro de la secreción de insulina y los defectos en la acción de la insulina coexisten con frecuencia en el mismo paciente, y a menudo, no está claro qué anomalía, si es que está sola, es la causa principal de la hiperglucemia.

La resistencia a la insulina (RI) es atribuida a los elevados niveles de ácidos grasos en el plasma, lo que conduce a una disminución del transporte de glucosa al musculo y producción elevada de glucosa hepática conduciendo a la hiperglicemia. El incremento de ácidos grasos, citosinas inflamatorias de las grasas y factores oxidativos han sido implicados en la patogénesis de la DMT2 y sus complicaciones cardiovasculares (Imam, 2013).

Las alteraciones metabólicas que llevan a desarrollar un cuadro patológico de DMT2, son detectadas a nivel sistémico mediante el análisis sanguíneo marcadores bioquímicos comúnmente utilizados como la glucosa, la insulina y la hemoglobina glicosilada. Sin embargo, las complicaciones de la DMT2 suelen detectarse una vez que se ha dado el fallo en el órgano o tejido periférico afectado. Estos cambios sistémicos debidos a la glucotoxicidad afectan los tejidos circulantes como la sangre.

### **2.3 Tejidos afectados en Diabetes Mellitus Tipo 2**

La DMT2 es una patología metabólica caracterizada por un grupo heterogéneo complejo de trastornos metabólicos como la hiperglucemia, alteración de la acción de la insulina y/o secreción de insulina. Las teorías actuales sobre las causas de esta patología incluyen; defecto en la captación de glucosa mediada por insulina en el músculo, disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas, alteración de la función secretora de los adipocitos y una acción alterada de la insulina en el hígado (Cipriani & Quintanilla, 2010).

Las personas con DMT2, presentan una hiperglucemia crónica, esta condición tiene como consecuencia un aumento en la producción de radicales libres del oxígeno y del nitrógeno, ocasionando la disminución de las defensas antioxidantes naturales (Hernández et al., 2011).

#### **2.3.1 Tejido sanguíneo**

La sangre es un tejido conectivo fluido. Circula por todo el cuerpo a través de los vasos sanguíneos mediante la acción de bombeo del corazón. La sangre en las arterias transporta oxígeno y nutrientes a todas las células del cuerpo. La sangre en las venas transporta dióxido de carbono y otros desechos de las células para ser excretados. La sangre también defiende al cuerpo contra las infecciones, repara los tejidos corporales, transporta hormonas y controla el pH del cuerpo (Karp, 2009).

Como integrante del tejido conjuntivo, la sangre tiene origen embriológico, proveniente del mesénquima, formado por células indiferenciadas y pluripotentes. Las células de la sangre se renuevan cada 120 días aproximadamente.

Los eritrocitos y las plaquetas ejercen su acción en el interior de los vasos sanguíneos, los leucocitos ejercen sus funciones en la matriz extracelular del tejido conjuntivo (Gartner y Hiatt, 1997). Los glóbulos rojos contienen una proteína especial llamada hemoglobina, cuya función es el transporte de oxígeno desde los pulmones al resto de las células del cuerpo y luego devuelve el dióxido de carbono del cuerpo a los pulmones para que pueda exhalarlo. La sangre es roja debido a la gran cantidad de glóbulos rojos, que obtienen su color de la hemoglobina. El porcentaje del volumen de sangre total que se compone de glóbulos rojos se llama hematocrito y es una medida común de los niveles de glóbulos rojos (Carrillo & Amador, 2007).

### **2.3.2 Composición del tejido sanguíneo**

La sangre está conformada por el plasma sanguíneo, en el que se encuentran los elementos formes en suspensión. El color rojo de la sangre se debe a la presencia de hemoglobina en la estructura de los eritrocitos. Su viscosidad y su densidad están relacionadas con la cantidad de glóbulos rojos y su presión osmótica con su contenido en proteínas. El pH en sangre se encuentra entre 7.35-7.45 (Guyton, 2006).

El plasma sanguíneo de color amarillento está conformado por un 95% de agua y el 5% restante por diversas sustancias en solución y suspensión. De estas, se pueden destacar; los iones minerales (sodio, potasio, calcio, cloro), moléculas orgánicas (aminoácidos, ácidos grasos y glucosa) y proteínas plasmáticas (albúminas, fibrinógeno). En condiciones normales, las proteínas del plasma constituyen del 7-9% del plasma (6-8 g/100 ml), destacan tres grandes grupos de proteínas: albúminas, globulinas y factores de la coagulación; fibrinógeno y la protrombina.

Distinguimos entre plasma y suero: El plasma es la parte líquida de la sangre sin coagular y el suero es el líquido sobrenadante que queda cuando la sangre total se coagula, por lo que tiene una composición similar a la del plasma, aunque sin fibrinógeno ni otros factores de la coagulación.

Existen 3 tipos de células en la sangre:

- Glóbulos rojos o eritrocitos o hematíes

- Glóbulos blancos o leucocitos
- Plaquetas o trombocitos

## **2.4 Eritrocitos**

Los glóbulos eritrocitos, son células del torrente sanguíneo de mayor abundancia en comparación con las demás células. Su principal función es el transporte de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> entre los tejidos y los pulmones. En humanos el número habitual de eritrocitos en sangre difiere entre sexos: 4.6 millones/mm<sup>3</sup> para mujeres y 5 millones/mm<sup>3</sup> para hombres.

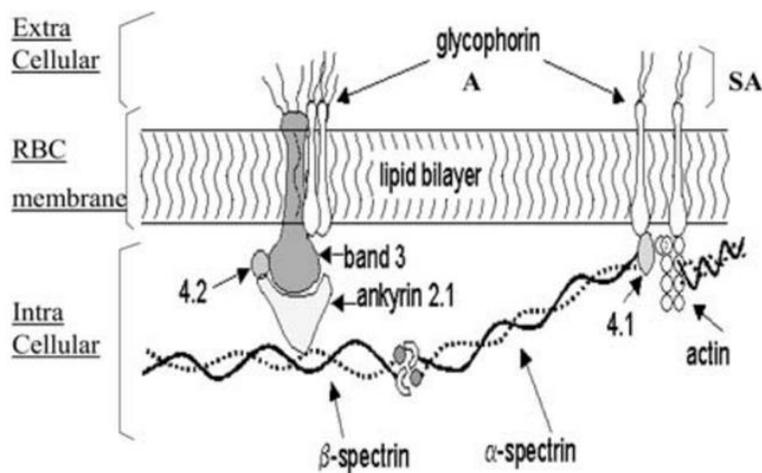
En estado fresco los eritrocitos son de color rojo, debido a su alto contenido en la proteína hemoglobina (Hb) (Carr et al., 2010). La hemoglobina es la principal proteína de los eritrocitos hay alrededor de 15 g/dl de sangre. Cada molécula de Hb está formada por 4 subunidades y cada subunidad consiste en un grupo hemo (que contiene 1 átomo de hierro) unido a una globina.

Los glóbulos rojos o eritrocitos se forman en la médula ósea a partir de células madre hematopoyéticas, a través del muy regulado conocido como hematopoyesis. Las células madre hematopoyéticas son capaces de transformarse en glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Los eritrocitos, comienzan como células inmaduras en la médula ósea y posteriormente, alrededor de siete días de maduración se liberan al torrente sanguíneo, no tienen núcleo y pueden cambiar de forma fácilmente, esto permite su paso a través de los distintos vasos sanguíneos del cuerpo. La ausencia de núcleo les permite mayor flexibilidad, sin embargo, limita la vida media del eritrocito a medida que viaja a través de los vasos sanguíneos más pequeños, dañando las membranas celulares y agotando sus suministros de energía (Majno & Joris, 2004). Los eritrocitos sobreviven durante unos 120 días y luego se destruyen.

### **2.4.1 características de los eritrocitos**

**Morfología.** La forma de los glóbulos rojos en mamíferos es de disco bicóncavo, debido a que no tiene núcleo. De diámetro puede medir alrededor de 8 µm y 2 µm de espesor. No poseen orgánulos, ni citoesqueleto transcelular. La forma bicóncava característica del eritrocito le confiere una mayor relación superficie/volumen lo que aumenta su eficiencia en la difusión de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> a través de su membrana plasmática. Esta característica permite que los eritrocitos se deformen y puedan transportarse por capilares con diámetros muy pequeños.

**Membrana del eritrocito.** La membrana eritrocitaria está conformada por colesterol en una concentración mayor del 30% más que las membranas plasmáticas de las otras células. Esta característica vuelve más rígida, y más hidrófobas (menos permeables) pero también menos fluidas a las membranas de los glóbulos rojos. Estos parámetros les dan propiedades de ser más resistentes evitando cualquier pérdida de contenido. Por otra parte, la membrana plasmática se encuentra anclada a una trama de citoesqueleto de 100  $\mu\text{m}$  de espesor que cubre toda la superficie interna (Figura 2), reacias a esto es capaz de responder y resistir a los cambios de forma (Carr et al., 2010), contiene proteínas y glicoproteínas incrustadas en una bicapa lipídica fluida que le confiere un comportamiento viscoelástico. Las glicoproteínas sialiladas de la membrana de los glóbulos rojos son responsables de una superficie cargada negativamente que crea un potencial zeta eléctrico repulsivo entre las células. Estas cargas ayudan a prevenir la interacción entre los glóbulos rojos y las otras células y especialmente entre sí. Los glóbulos rojos pueden presentar una deformabilidad reducida y una agregación más fuerte en muchas situaciones patológicas, como enfermedades cardíacas, hipertensión, diabetes, malaria y anemia de células falciformes (Desouky, 2009).



**Figura 2.** Membrana de glóbulos rojos. Representación esquemática de las orientaciones de las proteínas en los glóbulos rojos humanos.

**Deformabilidad.** La deformabilidad celular es el término generalmente utilizado para caracterizar la capacidad de los glóbulos rojos para sufrir deformaciones durante el flujo. La

respuesta de deformación de un glóbulo rojo a las fuerzas de los fluidos es un fenómeno complejo que depende de varias características celulares diferentes, incluidas las propiedades del material de la membrana, la geometría celular y la viscosidad citoplásmica (Mohandas, 1991).

## **2.5 Diabetes y su repercusión en los eritrocitos**

La hiperglucemia crónica provoca daños en el túbulo intersticial renal desde etapas tempranas, ocasionando cambios en la respuesta de la eritropoyetina (EPO), estrés oxidativo, deterioro en la acción del óxido nítrico (NO), neuropatía y aumento de los productos de glicosilación avanzada (AGES) (Sanhueza et al., 2014).

La diabetes conlleva al desarrollo de otras complicaciones relacionadas con ellas, un ejemplo de esto es la anemia, un tipo de afección que se debe a la falta de glóbulos rojos sanos en la sangre. Los glóbulos rojos son los encargados de llevar el oxígeno a los diferentes órganos. (Magazine, 2019).

Para la regulación de las cantidades de eritrocitos en el organismo, la eritropoyetina; hormona glicoproteica producida por el fibroblasto peritubular, que se libera ante la presencia de hipoxia tisular, regula el número de glóbulos rojos, esta es la razón por la que es el más alterado en las etapas iniciales de la diabetes. En esta etapa también participan otros factores como la disminución en la síntesis de eritropoyetina, acción directa de las toxinas urémicas, aumento de la respuesta inflamatoria crónica y déficit de hierro (Sanhueza et al., 2014).

### **2.5.1 Alteraciones del glóbulo rojo en la diabetes**

Hay diversas alteraciones en los eritrocitos que se relacionan con trastornos del metabolismo glucídico, entre los que destacan los siguientes:

**Reducción de la vida media.** La vida media normal del eritrocito es de  $123 \pm 23$  días en individuos sanos, sin embargo, en presencia de DM2 se observa una disminución de la vida eritrocitaria. Esto se debe a la interacción de la glucosa plasmática con la hemoglobina provocando la elevación de los productos de glicosilación avanzada (AGEs) que se acumulan indefinidamente en el tejido sanguíneo, modificando su estructura y afectando su funcionamiento.

La fracción A1c de la hemoglobina glicosilada (HbA1c), representa la unión covalente específica entre la glucosa y el amino terminal de la hemoglobina. Tiene lugar debido a una reacción no enzimática e irreversible, que depende de los niveles de glucosa plasmática y del tiempo que dure la hiperglicemia. Los valores normales de esta variable metabólica se encuentran en un rango de 4 a 6%, aceptándose como un buen índice de control metabólico niveles cercanos al 7%. Anteriormente se recomendaba el monitoreo de la HbA1c cada tres meses, considerando la supervivencia normal del glóbulo rojo; no obstante, los conocimientos actuales respecto a la relación con una vida media menor en los pacientes diabéticos recomiendan efectuar la determinación de HbA1c cada dos meses. Por otra parte, está demostrado que los niveles elevados de hemoglobina glicosilada A1c reducen el tiempo de vida eritrocitaria en un promedio de 6,9 días por cada 1,0% de aumento de la HbA1c sobre el valor normal (Sanhueza et al., 2014).

**Agregación eritrocitaria.** Esta condición se debe a la composición fosfolipídica de la membrana del eritrocito, se reporta en estudios, que hay diferencia en la composición fosfolipídica de la membrana eritrocitaria en individuos con DMT2, ya que se observa el aumento de la esfingomielina y disminución de la fosfatidilserina, el porcentaje de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina se mantienen normales, sin embargo, estas condiciones conllevan a un aumento en la agregación de los eritrocitos (López, 2020).

**Disminución de la deformación de los eritrocitos.** Esta condición tiene presencia por la baja concentración de ácido siálico y colesterol de la membrana eritrocitaria y a las reacciones de glicosilación que sufren las proteínas estructurales. Hay evidencias de que la fluidez de la membrana del glóbulo rojo disminuye en los diabéticos; esta alteración provoca la destrucción de estas células. La insulina estimula la proliferación de las células progenitoras eritroides mejorando la capacidad de deformación de la membrana celular, facilitando su movimiento a través del lecho capilar, aun cuando se tienen elevados valores de glucosa (López, 2020).

**Aumento de la capacidad oxidativa.** En pacientes con diabetes, los glóbulos rojos aumentan su capacidad oxidativa, que está determinada por la medición del ciclo redox del glutatión. Esto promueve el aumento del estrés oxidativo, lo que conlleva a la disfunción endotelial (Sanhueza et al., 2014).

**Hemostasia.** El daño tisular ocasionado al organismo por la permanente glucotoxicidad se lleva a cabo gracias a reacciones no enzimáticas, espontáneas, denominadas glicosilación. Estas

reacciones consisten en la unión de la glucosa a otras moléculas, generalmente proteínas y lípidos. Los productos glicosilados son los responsables de los efectos más comunes que de la diabetes mellitus, provocando la disfunción de los tejidos, ocasionando secuelas irreversibles. La hemostasia, hace referencia al conjunto de procesos moleculares fisiológicos que previenen y detienen la fuga de líquido sanguíneo a través de los capilares, venas y arterias que permiten la circulación; es decir previene hemorragias o las controla (Caunedo, 2005).

**Glicosilación de la hemoglobina.** Las altas concentraciones de glucosa en sangre llevan a que ésta se una a los grupos -NH<sub>2</sub> terminales de los aminoácidos lisina y valina de las cadenas α de la hemoglobina, provocando que las cargas positivas que estos aminoácidos aportan se anulen y disminuyendo su afinidad o sensibilidad con el 2,3 Difosfoglicerato (2,3 DPG), esto provoca una baja captación de oxígeno y por ende, los tejidos se tornan hipóxicos. La hemoglobina mide el número y duración de eventos hiperglicémicos, por lo que se utiliza como elemento de control en el tratamiento del diabético (Caunedo, 2005).

**Fragilidad globular.** En los glóbulos rojos, la glicosilación produce rigidez en su membrana, lo que ocasiona que se vuelva menos flexible y dificultando su paso por los vasos sanguíneos; es por esto, que, en pacientes con diabetes, hay mayor riesgo de presentar obstrucción de los vasos cuyo diámetro sea más pequeño y posteriormente isquemia a tejidos (López, 2020).

**Dificultad para cicatrización.** Uno de los síntomas que provoca la diabetes, es que existe dificultad para la cicatrización de las heridas, esto se debe al daño de las proteínas estructurales del tejido lesionado, causado por la glicosilación.

**Aumento de la viscosidad de la sangre.** La condición de hiperglucemia conlleva a la glicosilación de las proteínas plasmáticas, esto provoca cambios en las características fisicoquímicas del plasma, aumentando la viscosidad de la sangre y dificultando su circulación. Esta condición se manifiesta en la presencia de enfermedades cardiovasculares como infarto agudo de miocardio, ataque cerebrovascular, trombosis venosa profunda o trombo embolismo pulmonar (López, 2020).

Como se ha descrito, las alteraciones metabólicas que llevan a desarrollar un cuadro patológico de DM2, afectan elementos bioquímicos y celulares presentes en la sangre. En particular, se ha mostrado como un contexto tóxico de hiperglucemia afecta propiedades hematológicas en los eritrocitos. Estas alteraciones en la forma y función del eritrocito tienen su base desde las

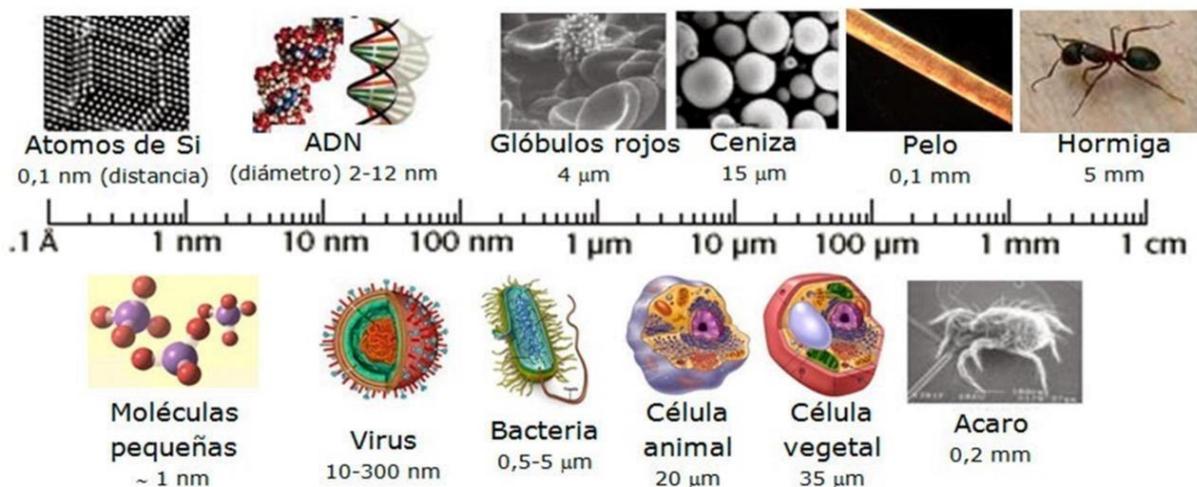
alteraciones estructurales y moleculares. A nivel fisicoquímico, estas alteraciones metabólicas pueden inducir cambios en el potencial electroquímico del eritrocito.

## 2.6 Fenómenos electrocinéticos

Electrocinética es un término general que se asocia con el movimiento relativo entre dos fases cargadas. Se conoce con el nombre de fenómenos electrocinéticos, al conjunto de fenómenos asociados al movimiento relativo entre la partícula y el medio, ocasionado por la acción de un campo externo. Un ejemplo de esto es el movimiento de partículas en una suspensión debido a la aplicación de un campo eléctrico externo. Los fenómenos electrocinéticos se utilizan para obtener información acerca del estado eléctrico de la interfaz sólido-líquido. En particular, el potencial zeta, denotado con la letra griega  $\zeta$  es un concepto trascendental para relacionar las cantidades medibles a nivel macroscópico con parámetros microscópicos que caracterizan el estado de los coloides (Tabeling, 2005).

### 2.6.1 Sistemas coloidales

El estudio de las partículas coloidales y sus interacciones en solución acuosa es un tópico de investigación en donde convergen diversas ciencias como la física, la química y la biología, así como sus aplicaciones. La sangre es un fluido coloidal. En los sistemas coloidales existen al menos dos fases, una de ellas finamente dividida en pequeñas partículas; fase dispersa o discontinua, a las que rodea completamente la otra fase; fase dispersante, medio de dispersión o

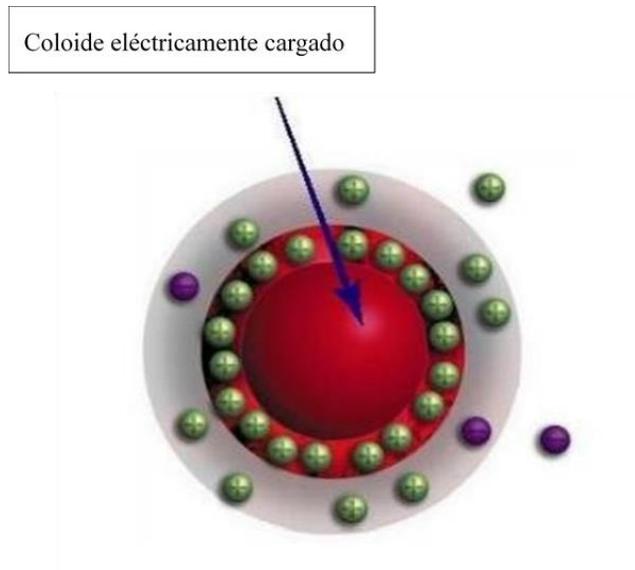


fase continua. Dentro de la rama de la ciencia coloidal, un coloide es cualquier partícula en

suspensión, que tiene una dimensión lineal entre  $10^{-9}$  m o 1 nm y  $10^{-6}$  m o 1  $\mu$ m (ver Figura 3).

**Figura 3.** Representación esquemática de las escalas de diferentes partículas.

Una particularidad de las suspensiones coloidales cargadas es la presencia de fuerzas eléctricas entre sus elementos constitutivos. Estas interacciones determinan sus propiedades estructurales y juegan un papel determinante en su comportamiento. Una micropartícula disuelta adquiere una carga eléctrica debido a la adsorción/desorción de iones en su superficie. Cuando la partícula está en suspensión, debido a su carga eléctrica, el efecto combinado entre las fuerzas de Coulomb y la agitación térmica de los iones libres dispersados en el fluido produce una doble capa eléctrica. La doble capa eléctrica es un concepto fisicoquímico clave que se refiere a la atmósfera creada por la distribución iónica de un electrolito alrededor de un coloide o superficie con carga eléctrica (Samuilovich et al., 1974.). En esta nube de iones se encuentran los contraiones, los cuales poseen carga de signo contrario a la del coloide o superficie, opuestamente, los co-iones poseen carga del mismo signo que el coloide o superficie ver Figura 4.



**Figura 4.** Representación simple de la doble capa eléctrica.

Uno de los mayores efectos de la superficie son los fenómenos electrocinéticos. Cada coloide contiene una carga eléctrica que suele ser de naturaleza negativa, aunque también puede ser

positiva. Estas cargas producen fuerzas de repulsión electrostática entre los coloides vecinos. Si la carga es suficientemente elevada los coloides permanecen discretos, dispersos y en suspensión. Reduciendo o eliminando estas cargas se obtiene el efecto opuesto y los coloides se aglomeran y sedimentan fuera de la suspensión.

### **2.6.2 Propiedades de los coloides**

La propiedad de los coloides se define por la elevada relación área/volumen y las fuerzas de interacción que operan entre las partículas. Respecto a la relación área/volumen, las partículas o fase sólida de una dispersión coloidal son de tamaños inferiores a  $1\ \mu\text{m}$ , por lo cual la relación área/volumen o área/masa de la partícula es muy grande, este factor ejerce una gran influencia en las propiedades de la suspensión; y cuanto más pequeñas sean las partículas, más se acercarán al tamaño de otras posibles sustancias presentes en la suspensión, e incluso, a las moléculas del líquido de dispersión. Las propiedades de un coloide se determinan por el tamaño y por las superficies de contacto entre sus componentes.

Las partículas sólidas interactúan con las moléculas del líquido, pero, además, existe una fuerte tendencia a la interacción de las partículas sólidas entre sí. La estabilidad del sistema coloidal dependerá de las distintas fuerzas de interacción en juego, que determinan su estado energético. Las propiedades más importantes de los sistemas coloidales son consecuencia de la elevada relación área/masa o área/volumen de las partículas coloidales.

### **2.7 Potencial eléctrico**

A la energía potencial por unidad de carga se le denomina el potencial eléctrico. Este concepto es muy general ya que en un punto es independiente de la carga de prueba  $q'$  y únicamente caracteriza la influencia del campo eléctrico en el espacio.

$$V = \frac{U}{q'}$$

Como la energía potencial y la carga son cantidades escalares, el potencial también es una cantidad escalar. En el Sistema Internacional de Unidades, la unidad para el potencial eléctrico es el volt (V).

$$1V = \frac{1J}{C}$$

Para un conjunto de cargas puntuales, el potencial en un punto está dado por

$$V = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum \frac{qi}{ri}$$

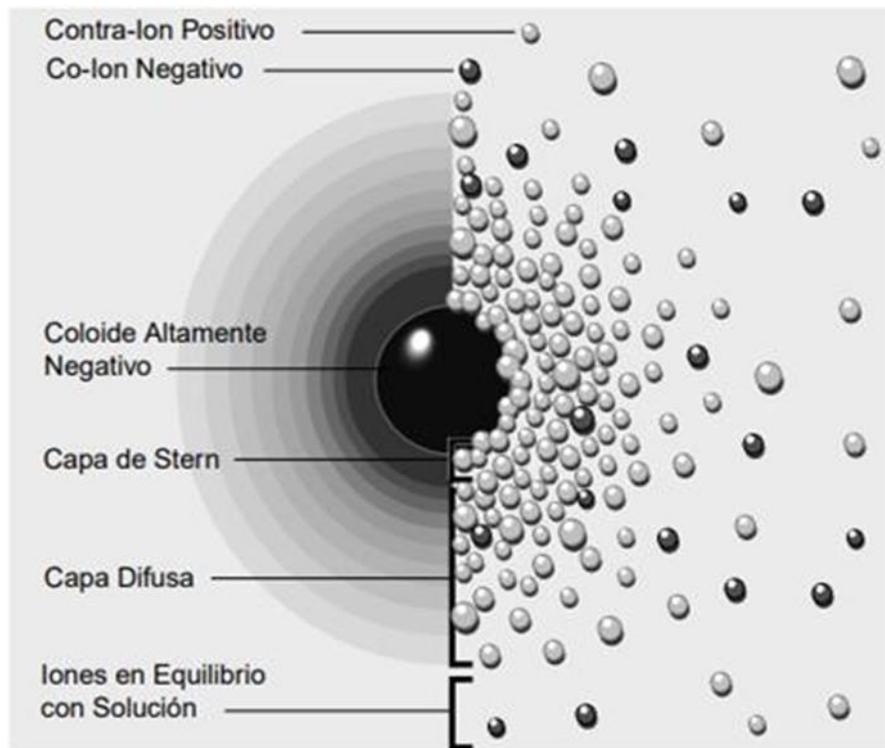
La diferencia de potencial de a con respecto a b se interpretaría como el trabajo por unidad de carga, cuando esta se mueve del punto a al b bajo la influencia del campo eléctrico.

### 2.7.1 Teoría de la doble capa eléctrica

El modelo de la doble capa se utiliza para explicar cómo actúan las fuerzas eléctricas de repulsión. Para empezar, es importante entender el efecto del coloide sobre el ion positivo llamado contraión en la solución. La atracción del coloide negativo al inicio provoca que algunos iones positivos formen una rígida capa adyacente alrededor de la superficie del coloide, esta capa de contraiones es la capa de Stern. Después, otros iones positivos son todavía atraídos por el coloide negativo, pero son rechazados por la capa de Stern, así como por otros iones positivos que intentan acercarse al coloide. Este equilibrio dinámico resulta en la formación de una capa difusa de contraiones. Los contraiones tienen una alta concentración cerca de la superficie, que disminuye gradualmente con la distancia, hasta que se logra un equilibrio con la concentración de los contraiones en el seno de la disolución. En forma similar, pero opuesta, en la capa difusa hay un déficit de iones negativos, llamados co-iones pues tienen la misma carga que el coloide. Su concentración se incrementa gradualmente al alejarse del coloide, en tanto que las fuerzas repulsivas del coloide son compensadas por los iones positivos, hasta alcanzar nuevamente el equilibrio. La capa difusa se puede visualizar como una atmósfera cargada rodeando al coloide. A cualquier distancia de la superficie, la densidad de carga es igual a la diferencia de concentración entre iones positivos y negativos. La densidad de carga es mucho mayor cerca del coloide y disminuye mide el número y duración de eventos hiperglicémicos hasta cero, cuando las concentraciones de iones positivos y negativos se asemejan. Los contraiones de la capa de Stern y de la capa difusa, son los que juntos llamaremos doble capa, ver Figura 5. El espesor de esta doble capa depende del tipo y de la concentración de los iones

de la solución. La capa difusa puede ser visualizada como una atmósfera cargada rodeando al coloide (Samuilovich et al., 1974.).

El lado izquierdo muestra el cambio en la densidad de carga alrededor del coloide. El lado derecho muestra la distribución de iones positivos y negativos alrededor del coloide cargado (Mantilla et al., 2008).



**Figura 5.** Dos maneras de visualizar la doble capa (Coagulación & Floculación, Zeta-Meter).

### 2.7.2 Teoría de la doble capa eléctrica y Potencial Zeta

El Potencial Zeta es un parámetro que describe la intensidad del campo eléctrico de la doble capa en el límite entre el coloide y el fluido. Un coloide o una suspensión coloidal, es un sistema que se conforma por dos fases, una fluida; líquido, y otra dispersa en forma de partículas generalmente sólidas muy finas. En la fase acuosa, una molécula se pliega de tal forma que su parte hidrofílica se encuentra en el exterior, formando interacciones con moléculas de agua a través de fuerzas ión-dipolo o fuerzas puente de hidrógeno que se mueven a la parte externa de

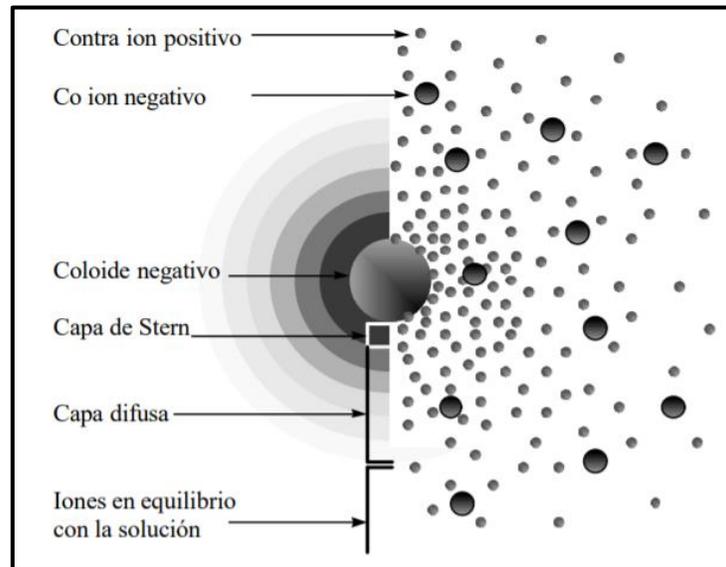
la molécula. Los coloides tienen una determinada viscosidad; que es la resistencia interna que presenta un fluido: líquido o gas, al movimiento relativo de sus moléculas. Las fuerzas de unión en la superficie del coloide y el líquido son las que determinan su comportamiento. Cada coloide contiene una carga eléctrica que suele ser de naturaleza negativa, aunque también puede ser positiva. El coloide negativo y su atmósfera cargada positivamente producen un potencial eléctrico. Este tiene un valor máximo en la superficie y disminuye gradualmente con la distancia, aproximándose a cero fuera de la capa difusa, como se observa en Figura 6. La caída del potencial y la distancia desde el coloide es un indicador de la fuerza repulsiva entre los coloides en función de la distancia a las cuales estas fuerzas entran en juego. Un punto de particular interés es el potencial donde se unen la capa difusa y la capa de Stern, este potencial es conocido como el ZP, y es muy importante porque puede ser medido de una manera muy sencilla, mientras que la carga de la superficie no se puede medir (Mantilla et al., 2008).

### **2.7.3 Potencial zeta**

Los valores de potencial zeta pueden estar relacionados con la estabilidad de las dispersiones coloidales. Los valores de ZP indican el grado de repulsión entre partículas adyacentes, que se encuentran cargadas en una dispersión, esta variable nos da una idea de su estado eléctrico. Para partículas pequeñas, un valor de ZP alto le confiere estabilidad, es decir, la solución o dispersión se resistirá a la agregación. Cuando el potencial es bajo, se tiene atracción entre las partículas, se supera a la repulsión y se forman flóculos, en lugar de dispersión. Por lo tanto, los coloides de alto ZP se estabilizan eléctricamente, mientras que, los coloides con bajos valores de ZP tienden a coagular o flocular. La estabilidad de las dispersiones depende del balance entre las cargas electrostáticas repulsivas en la partícula coloidal y las fuerzas de atracción de van der Waals. El ZP es puramente una propiedad electrocinética de la doble capa eléctrica que rodea el sistema, pero no la superficie del sistema en sí. El valor del potencial zeta indica la estabilidad del sistema en estudio. Este parámetro se mide determinando la movilidad / velocidad de la partícula bajo un campo eléctrico aplicado.

El potencial zeta es una propiedad física que presentan todas las partículas en suspensión. El desarrollo de una carga neta en cualquier partícula afecta la distribución de iones en la región interfacial circundante, lo que resulta en una mayor concentración de contraiones, iones de carga

opuesta a la de la partícula, cerca de la superficie. Por tanto, existe una doble capa eléctrica alrededor de cada partícula. La doble capa se forma para neutralizar la partícula cargada. Hay una capa delgada de contraiones fuertemente atraídos por la partícula cargada, llamada capa compacta. Los contraiones de la capa compacta son inmóviles debido a esta fuerte fuerza electrostática. Los contraiones fuera de la capa compacta son móviles y se denominan capa difusa (Figura 5).



**Figura 6:** Capa difusa (Coagulación & Floculación, Zeta-Meter)

El (ZP) es el potencial electrostático en el límite que divide la capa compacta y la capa difusa. El potencial zeta sirve como un parámetro importante para caracterizar la interacción electrostática entre partículas en sistemas dispersos y las propiedades de dispersión afectadas por este fenómeno eléctrico. El ZP es una propiedad física que presentan todas las partículas en suspensión. El desarrollo de una carga neta en cualquier partícula afecta la distribución de iones en la región interfacial circundante, lo que resulta en una mayor concentración de contraiones, iones de carga opuesta a la de la partícula, cerca de la superficie. Por tanto, existe una doble capa eléctrica alrededor de cada partícula (Hunter, 1981).

El ZP se puede mostrar mediante una ecuación (Ecuación #) y depende de la electronegatividad carga) del RBC ( $\sigma$ ), la constante dieléctrica del medio (D) y la fuerza iónica ( $\mu$ ).

$$ZP = \frac{4\pi \times Vt}{Dt} \times EM$$

**Ecuación 1:** Ecuación para el cálculo de potencial zeta (Coagulación & Floculación, Zeta-Meter).

#### 2.7.4 Movilidad electroforética

Las moléculas biológicas que dependen principalmente de su carga bajo la influencia de un campo eléctrico se pueden separar mediante electroforesis. La electroforesis es un método analítico semi preparativo que se utiliza para separar biomoléculas, en dependencia entre otros factores de su carga bajo la acción de un campo eléctrico. La electroforesis consiste en la migración de solutos iónicos bajo la influencia de un campo eléctrico; estas partículas migran hacia el cátodo o ánodo (electrodos - y +), en dependencia de una combinación de su carga, peso molecular y estructura tridimensional (Molina, 2003).

La velocidad (v) con la que migra una partícula es directamente proporcional al producto de su carga efectiva (q) y el gradiente de potencial eléctrico (E) e inversamente proporcional al coeficiente de fricción (f) relativo a la talla y forma de la molécula, es decir, a la resistencia que le ofrece el medio.

$$V = q \frac{E}{f}$$

La movilidad electroforética (ME) representa un caso particular de la velocidad de migración de un ión, cuando se aplica un campo eléctrico de 1 V/cm.

La movilidad, (u), se define como la velocidad que toma la partícula por unidad de campo, o

$$u = \frac{v}{E} = \frac{q}{f}$$

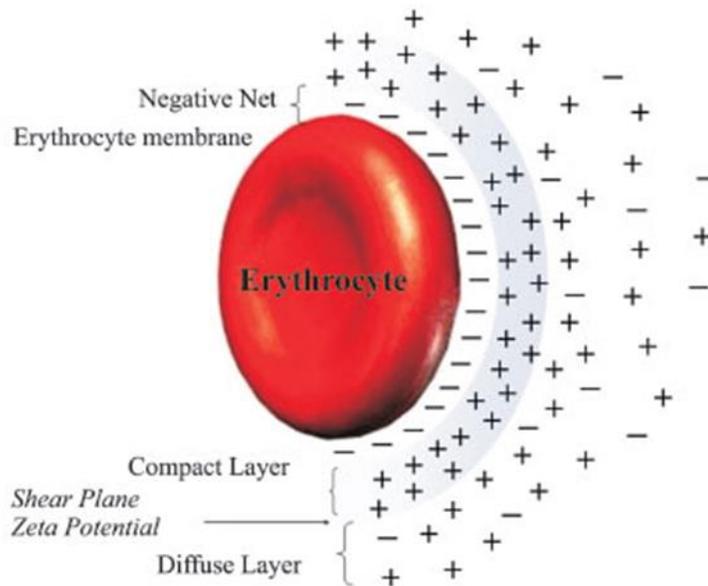
como la movilidad depende del coeficiente de fricción, que a su vez es función de ciertos parámetros físicos de las moléculas, el valor de u puede dar información acerca del tamaño y forma de la partícula.

La velocidad de movilidad electroforética depende de la densidad de carga, de la molécula (relación carga / peso), del voltaje aplicado y de la porosidad del gel de electroforesis. El voltaje

no se puede incrementar indiscriminadamente porque esto genera un exceso de calor. Por el contrario, al aplicar bajo voltaje puede ocurrir una pobre separación, por causa de la difusión por tiempo muy prolongado de la corrida electroforética. La mayoría de las biomacromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos) poseen determinada carga eléctrica con grupos aniónicos y catiónicos capaces de disociarse. La carga neta de la partícula está dada por el pH del medio y puede ser modificada por la interacción con pequeñas moléculas de iones u otras macromoléculas. Por lo anterior, se deduce que el pH influye sobre la velocidad de migración de las moléculas. En el punto isoeléctrico de la biomolécula, el valor de pH que permite que su carga neta sea cero, provoca que ésta no migre. Por debajo del punto isoeléctrico tiene carga neta positiva y migra hacia el cátodo, y por encima del punto isoeléctrico tiene carga neta negativa y migra hacia el ánodo (Molina, 2003).

## **2.8 Potencial electroquímico de eritrocitos**

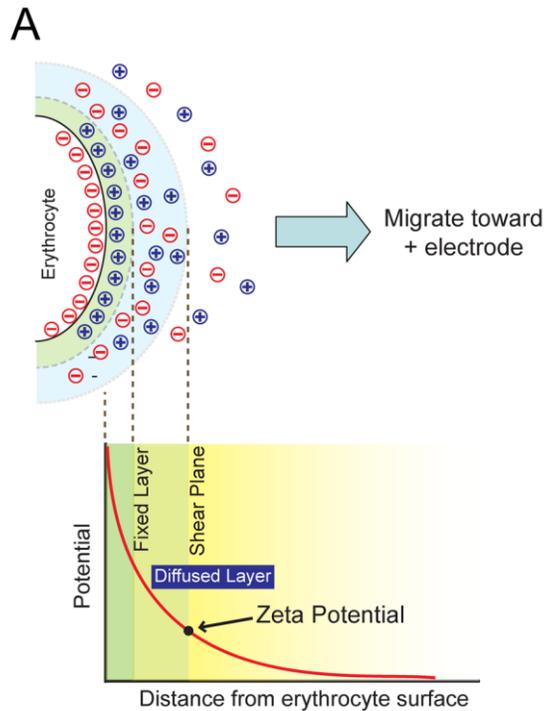
El potencial electroquímico de la membrana es una característica del perfil molecular de la membrana celular y la disposición bidimensional de sus moléculas portadoras de carga. Este potencial o carga eléctrica puede ser modificada por el ambiente molecular y puede reflejar los cambios metabólicos a los que se ha enfrentado o enfrenta células como los eritrocitos en un ambiente circulante como DM2. Teniendo en cuenta que la exposición crónica a la glucosa afecta a todas las células humanas, los eritrocitos representan un interés especial para su estudio debido a su larga vida de 120 días (Deray et al., 2004).



**Figura 7:** Representación esquemática del potencial zeta. Eritrocitos (cargas negativas) en suspensión provocan un reordenamiento de cargas mediante la formación de dos capas iónicas que generan una diferencia de potencial eléctrico entre ellas, denominada potencial Zeta (Modificado de Pollack & Reckel, 1977 y Rouger & Salmon, 1981).

### 2.8.1 Potencial Zeta en la membrana de eritrocitos

La organización lateral de los componentes de la membrana depende en gran medida de las cantidades relativas y las interacciones intermoleculares de proteínas y lípidos, y de la unión de proteínas extracelulares. Estos y otros factores determinan el potencial de membrana neto, que se puede medir como (ZP). La medición de ZP es una forma fácil y relativamente rápida de detectar cambios moleculares que se han producido en la superficie de la membrana de las células vivas. El principio básico de ZP se muestra en la Figura 7A. Una carga superficial neta más alta atrae más contraiones en el medio ambiente y forma nubes de iones fijos. A su vez, esta nube de iones establece atrae iones que tienen el mismo signo que los presentes en la superficie celular, creando una capa difusa compuesta por una mezcla de cationes y aniones. Dentro de la capa difusa, el movimiento browniano de los eritrocitos crea un plano de corte que separa los iones fuertemente asociados con la capa fija del resto de la población. El potencial en el plano de corte se define como ZP.



**Figura 8:** Análisis de potencial zeta (ZP). (A) Diagrama del principio ZP. ZP se define como el potencial electroquímico en el plano de corte. Fuera del plano de corte, los iones no están estrechamente asociados con la nube de iones interna.

La sangre es un fluido no newtoniano y, por tanto, su viscosidad es variable a cualquier temperatura dada, dependiendo de la velocidad de cizallamiento. A una tasa de cizallamiento baja, los glóbulos rojos pueden agregarse y formar pilas unidimensionales de tipo rouleaux o agregados tridimensionales (3D). Esto se debe a que la repulsión electrostática de los glóbulos rojos se ve superada por la presencia de macromoléculas que agregan las células. El proceso es reversible y particularmente importante en la microcirculación, ya que tales rollos o agregados pueden aumentar dramáticamente la viscosidad sanguínea efectiva. Los glóbulos rojos también pueden presentar una deformabilidad reducida y una agregación más fuerte en muchas situaciones patológicas, como enfermedades cardíacas, hipertensión, diabetes, malaria y anemia de células falciformes (Chien et al., 1983).

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica compleja y un problema de salud cada vez más importante a medida que aumenta la incidencia en todo el mundo. En 2030, la Organización Mundial de la Salud (OMS) predice 366 millones de personas con diabetes (5% de la población

mundial). La diabetes mellitus es la causa más importante de ceguera en adultos; Además, el riesgo de enfermedad coronaria es de dos a cuatro veces mayor en pacientes con diabetes. El riesgo de accidente cerebrovascular o enfermedad vascular periférica también aumenta considerablemente. La diabetes produce alteraciones de los perfiles lipídicos, especialmente una mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica, que es responsable de una mayor incidencia de aterosclerosis, una complicación importante de la diabetes mellitus. En estos pacientes se ha observado un aumento del estrés oxidativo, indicado por el aumento de la producción de radicales libres, la peroxidación de lípidos y la disminución del estado antioxidante (Hernández et al., 2011). El estrés oxidativo en células y tejidos juega un papel importante en la patogénesis de la diabetes mellitus. El estrés oxidativo se manifiesta por un aumento de los niveles de radicales libres y LPO; suprime la glucólisis, la producción de proteínas y ácidos nucleicos y las actividades enzimáticas y promueve el desacoplamiento de oxidación-fosforilación. La tasa de formación de radicales libres durante el estrés oxidativo supera la tasa de su neutralización por el sistema antioxidante. El estrés oxidativo se considera no solo como el principal mecanismo de las complicaciones tardías de la DM, sino también como un factor subyacente al desarrollo de la DM.

Los efectos tóxicos de la glucosa sobre los eritrocitos se manifiestan en la reestructuración de las membranas de los eritrocitos, trastornos en la actividad de unión de oxígeno de la hemoglobina, modificación de las características mecánicas de la membrana y de la célula en general. Los cambios en la estructura del citoesqueleto y la composición de la bicapa lipídica causados por procesos oxidativos conducen al daño de los eritrocitos (Díaz et al., 2004).

El potencial zeta es un aspecto electroquímico de la superficie de una partícula, y a partir de esta medición se puede obtener información sobre la capacidad de dispersión, agregación y adhesión de la partícula. Si el potencial zeta toma un valor cruzado alrededor de cero, la fuerza repulsiva entre las partículas se debilita y las partículas eventualmente se agregarán. La técnica ZP puede considerarse una herramienta indirecta para estimar el potencial de superficie de las bacterias, una característica física que es clave para mantener una función celular óptima, así como resulta importante estudiar este aspecto en bacterias, también hay algunos estudios que utilizan esta herramienta para el estudio de glóbulos rojos (Fernandes & Barjas, 2011).

Los eritrocitos juegan un papel importante en el transporte de oxígeno y dióxido de carbono. Aunque los eritrocitos no poseen núcleo ni mitocondrias, cumplen varias actividades metabólicas, a saber, la vía de Embden-Meyerhof, así como la derivación de hexosa monofosfato. Los procesos metabólicos dentro del eritrocito contribuyen a la morfología y los componentes importantes se mantienen en una forma activa y reducida.

Investigaciones anteriores, demostraron que en los pacientes diabéticos (tipo 2), hay una ultraestructura de glóbulos rojos modificada, que se sugiere que es causada por la sobrecarga de hierro y la polimerización de fibrinógeno no enzimática posterior. Estos cambios se deben específicamente a la inflamación en esta condición, que se asocia con eventos trombóticos. Además, la diabetes se asocia con alteraciones de la arquitectura de la membrana de los eritrocitos y las funciones de los eritrocitos a escala molecular pueden verse comprometidas.

## **2.9 Comportamiento reológico y eléctrico de los eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus**

Se han estudiado las propiedades reológicas y eléctricas de los glóbulos rojos en pacientes con diabetes para evaluar las complicaciones de la enfermedad. En una investigación realizada en 2009 se estudió el comportamiento reológico y eléctrico de en pacientes con DMT2, en el cual se observó un aumento en la viscosidad y el límite elástico del eritrocito diabético en comparación con el normal. Estos pueden conducir al aumento de la agregación y la disminución de la deformabilidad de los glóbulos rojos debido a la reducción de la carga eléctrica superficial negativa. Los trastornos reológicos pueden provocar problemas de microcirculación. El alto valor de glucosa conduce a un desequilibrio de electrolitos en la membrana de los glóbulos rojos, y la técnica de espectroscopia dieléctrica es muy sensible a cambios tan leves. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran un aumento de las propiedades reológicas; viscosidad y límite elástico, y eléctricas; constante dieléctrica, pérdida dieléctrica, tiempo de relajación y conductividad CA de los eritrocitos diabéticos en comparación con individuos sanos. Los trastornos reológicos de los eritrocitos diabéticos (aumento de la agregación y disminución de la deformabilidad) son causa de complicaciones microvasculares de la diabetes. Sin embargo, se desconoce el efecto de la glucosa sobre las propiedades eléctricas de los glóbulos rojos. Los resultados obtenidos refuerzan la opinión de trabajos que afirman un

aumento de la concentración de glucosa y el aumento de las propiedades eléctricas confirmando el uso de estas propiedades como forma de medir la concentración de glucosa sin intervención (Desouky, 2009).

### **2.10 Cambios en la estructura de la membrana de los glóbulos rojos en la diabetes tipo 2: un estudio de microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica**

Los glóbulos rojos son altamente deformables y poseen una membrana robusta que puede resistir la fuerza de corte. Investigaciones anteriores demostraron que en los pacientes diabéticos hay una ultraestructura de glóbulos rojos modificada, donde estas células se alargan y se retuercen alrededor de fibras de fibrina formadas espontáneamente. Estos cambios pueden afectar la función de los eritrocitos. El análisis ultraestructural de los glóbulos rojos en enfermedades inflamatorias y degenerativas, en estudios recientes constituye una herramienta de investigación fundamental en los estudios clínicos. En un estudio realizado por Buys et al. (2013), donde investigaron la rugosidad de la membrana y los cambios ultraestructurales en diabetes mellitus tipo 2, se utilizó microscopía de fuerza atómica (AFM) para estudiar la rugosidad de la membrana y correlacionar esto con la microscopía electrónica de barrido (SEM) para comparar los resultados de ambas técnicas con los glóbulos rojos de individuos sanos. En este trabajo, se encontró que los análisis combinados de AFM y SEM de glóbulos rojos brindan información valiosa sobre el estado de la enfermedad de los pacientes con diabetes. En el análisis de AFM, se observó una diferencia de diámetro, altura y profundidad cóncava entre los individuos sanos y diabéticos. Esto se correlaciona con el análisis visual SEM, donde los glóbulos rojos de pacientes diabéticos difieren en forma y tamaño en comparación con los glóbulos rojos de individuos sanos.

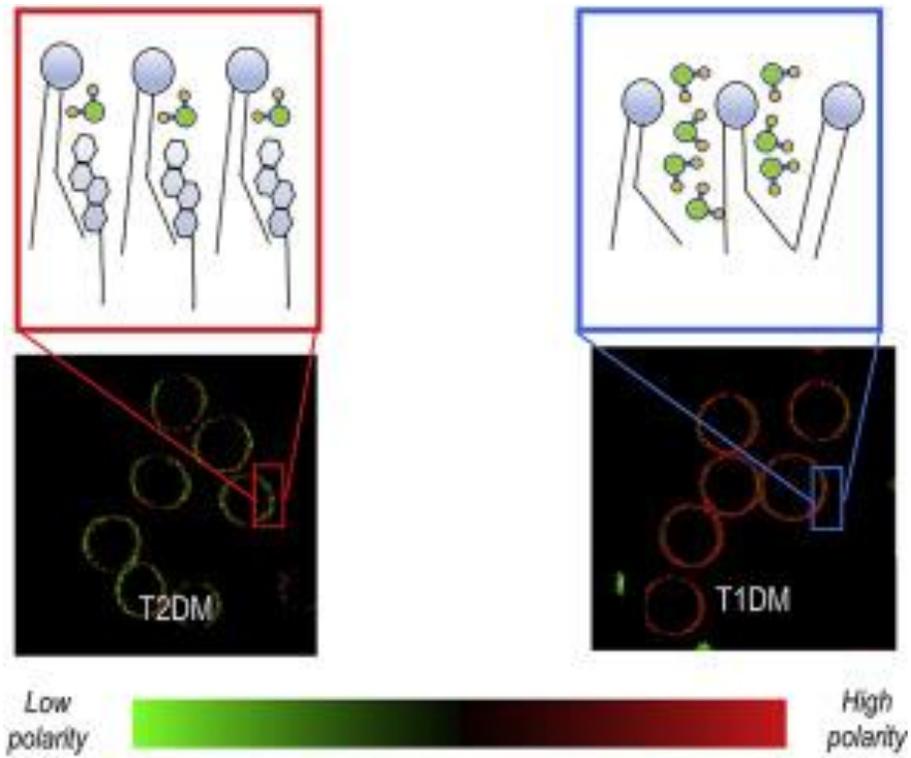
### **2.11 Aspectos fisicoquímicos del eritrocito infectado por Plasmodium Chabaudi.**

En una investigación de los tipos de modificación realizados en los eritrocitos por diferentes especies de parásitos de la malaria se estudiaron los aspectos fisicoquímicos de la membrana eritrocitaria en términos de las modificaciones estructurales inducidas por la infección con el parásito de la malaria en roedores *P. chabaudi*; un parásito *Plasmodium* no humano y *P. alciparum*; la especie cerebral más virulenta que causa la malaria. Mediante análisis de potencial

zeta de los eritrocitos parasitados, se encontró que el cambio de potencial de superficie era más negativo para los eritrocitos infectados por *P. chabaudi* que para los eritrocitos infectados por *P. falciparum*. Los eritrocitos parasitados exhiben fenómenos similares a los eritrocitos envejecidos en comparación con los eritrocitos normales, como niveles aumentados de hemicromico, niveles más altos de oxidación, alteraciones en la agregación de la Banda 3 y el citoesqueleto, y cambios en la expresión de proteínas relacionados con la función inmune, la adhesión y la permeabilidad del eritrocito (Hayakawa et al., 2015).

### **2.12 La micropolaridad de la membrana de los glóbulos rojos como un nuevo indicador de diagnóstico de la diabetes tipo 1 y tipo 2**

La clasificación de la categoría de Diabetes es extremadamente importante para que los médicos diagnostiquen y seleccionen el plan de tratamiento adecuado, en un estudio realizado por Bianchetti et al. (2019), se emplea una sonda sensible a la micropolaridad de la membrana eritrocitaria para monitorear las variaciones en los glóbulos rojos de sujetos sanos y de pacientes con Diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2, para proporcionar un indicador complementario en la clasificación de la categoría de la diabetes. Se encontró un microambiente de membrana menos polar en pacientes con DMT2, y un microambiente de membrana más polar en pacientes con DMT1 en comparación con pacientes sanos control (Figura 8).



**Figura 9:** Micropolaridad de membrana de eritrocitos de pacientes con DMT2 Y DMT1. De acuerdo con los valores de GP, el color de cada píxel va desde el rojo (micropolaridad de membrana alta, GP bajo) hasta el verde (micropolaridad de membrana baja, GP alto).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) se puede definir como una enfermedad metabólica crónica que se caracteriza por un déficit parcial o total de insulina, lo que conlleva una situación de hiperglucemia. La DMT2 se presenta con numerosos parámetros hemorreológicos alterados. Entre éstos los que destacan el hematocrito, los niveles de proteínas plasmáticas, la agregación eritrocitaria y la deformabilidad de glóbulos rojos. Estas variables en un ambiente de DMT2, aumentan la viscosidad plasmática y sanguínea, provocando una elevada resistencia al flujo vascular, lo que incrementa las probabilidades de producir complicaciones microvasculares como microangiopatía, nefropatía y retinopatía.

Las anormalidades en la agregación eritrocitaria están involucradas en las complicaciones vasculares de hipertensión y diabetes. Sin embargo, pocos estudios han evaluado la asociación de los cambios en la carga superficial de los glóbulos rojos con complicaciones microvasculares en pacientes con DMT2.

El potencial zeta proporciona información sobre la carga superficial total de un eritrocito, y este parámetro está modulado por complejos formados entre diferentes proteínas, la bicapa lipídica y el citoesqueleto de eritrocitos. No sabemos qué proteínas o complejos proteicos reducen el valor absoluto de la carga superficial de los eritrocitos alterados en presencia de DMT2, es por ello que en este estudio se busca calcular el potencial zeta mediante la movilidad electroforética de los glóbulos rojos en pacientes con DMT2 para encontrar una correlación de la carga eléctrica superficial eritrocitaria y los cambios metabólicos en la superficie de los hematíes en estado de enfermedad. En este contexto, se puede utilizar la movilidad electroforética, como medida técnica que ayude a la detección oportuna de diabetes, también se puede rastrear la eficacia de los regímenes de tratamiento sobre la integridad, la forma celular y la aspereza y el estado de salud de los glóbulos rojos, ya que el estado de salud de esta célula es crucial para el bienestar general del paciente diabético.

## IV. JUSTIFICACIÓN

Las investigaciones sobre glóbulos rojos proporcionan información valiosa sobre el estado de la enfermedad de los pacientes con diabetes. El estudio de la relación de las alteraciones metabólicas en contexto de diabetes mellitus en la carga eléctrica superficial de los eritrocitos, puede ser un indicador que ayude a comprender los cambios cualitativos que ocurren en las líneas hematopoyéticas, resaltando la importancia de un parámetro de diagnóstico oportuno y rentable para DMT2, así como para aplicar el tratamiento indicado según las particularidades de cada paciente, considerando que la mayoría de los pacientes con hiperglucemia son propensos a cualquier tipo de infección, además presentan algún grado de alteración en las células hematológicas, como el eritrocito, resulta de suma importancia analizar los parámetros implicados que aun se desconocen y que pueden estar modificados debido a las condiciones ya conocidas de la DMT2.

El presente trabajo se plantea para el estudio del efecto de las alteraciones metabólicas en el estado eléctrico de eritrocitos en pacientes con DMT2, partiendo de que se han descrito alteraciones del metabolismo de la glucosa en otras patologías hematológicas por déficit de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD) y considerando que los pacientes con DMT2 presentan alteraciones debido a la hiperglicemia, resulta muy interesante comprender los cambios fisicoquímicos de los eritrocitos en sujetos con estado de enfermedad respecto a un grupo control. Con este estudio, se pretende proveer información que sienta las bases a futuras investigaciones en esta temática, para considerar el estado eléctrico superficial de los eritrocitos como parámetro que describe el comportamiento eléctrico de estas células en presencia de DMT2, patología cuyas cifras en aumento impactan tanto en la economía como en la calidad de vida de quienes la padecen, por lo que este trabajo sienta las bases para utilizar esta técnica en un futuro para describir el comportamiento de este tipo de enfermedades crónicas, considerando las ventajas que conlleva, destacando que es rápida, accesible y rentable.

## **VI. HIPÓTESIS**

Existe un efecto de las alteraciones metabólicas en la carga eléctrica superficial de los eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 respecto a una población control.

## **V. OBJETIVOS**

### **7.1 Objetivo general**

Evaluar la carga eléctrica superficial de los eritrocitos de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y un grupo control.

### **7.2 Objetivos específicos**

1. Caracterizar las alteraciones metabólicas presentes en la población con diabetes mellitus tipo 2, comparadas con un grupo control.
2. Cuantificar la carga eléctrica (potencial zeta) superficial de los eritrocitos en la población control y con DMT2.
3. Analizar el efecto de las alteraciones metabólicas presentes en la población con DMT2 sobre la carga eléctrica superficial de los eritrocitos.
4. Analizar la correlación entre el valor de la carga eléctrica superficial del eritrocito con los datos de química sanguínea de pacientes con DMT2.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Tipo y población de estudio**

#### **6.1.1 Tipo de estudio**

Este es un estudio comparativo, transversal y descriptivo.

#### **6.1.2 Población de estudio**

Se obtuvieron muestras de sangre procedentes de dos grupos: individuos control y pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Para caracterizar los efectos del contexto diabético sobre las propiedades electroquímicas de los eritrocitos en diferentes condiciones de envejecimiento, los grupos diabéticos y los controles, se subdividieron de acuerdo con el factor etario; es decir, un primer bloque con muestras de pacientes en una edad de 30-60 años y un segundo bloque que con muestras de pacientes del rango de edad de los 61-90 años. Por lo que de estos 2 grupos se obtuvieron cuatro subgrupos: DMT2 A, DMT2 B, CTRL A y CTRL B.

### **6.2 Consideraciones éticas**

Las muestras fueron obtenidas de las siguientes instancias: Hospital Civil de Culiacán (CIDOCS, Universidad Autónoma de Sinaloa), ISSSTE Hospital Regional Culiacán y Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Cada muestra de paciente se tomó posterior a la firma del consentimiento informado, según los lineamientos de la declaración de Helsinki (Anexo 1). Se anexa formato de consentimiento informado. Este estudio corresponde a una investigación con mínimo riesgo acorde a la Ley General de Salud, Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17. El presente protocolo de investigación se ha registrado ante el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa, con número de registro ante la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOÉTICA), CONBIOÉTICA-25-CEI-003-20181012.

Como parte de la caracterización de la población, se realizará historia clínica cuyos datos obtenidos serán antropometría (evaluación por bioimpedancia), hábitos alimenticios, química sanguínea, actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol, antecedentes patológicos y heredo-familiares, así como la presencia de comorbilidades asociadas a la diabetes mellitus.

## **6.3 Criterios de Selección**

### **6.3.1 Criterios de Inclusión y exclusión de acuerdo con el grupo**

**Grupo diabéticos.** Se tomaron en cuenta aquellos pacientes de 30-90 años (grupo A de 30-60 años y grupo B de 60-90 años); diagnosticados con diabetes mellitus tipo 2 y de sexo indistinto, fuese hombre o mujer. Fueron excluidos aquellos pacientes que viven con diabetes mellitus tipo 1.

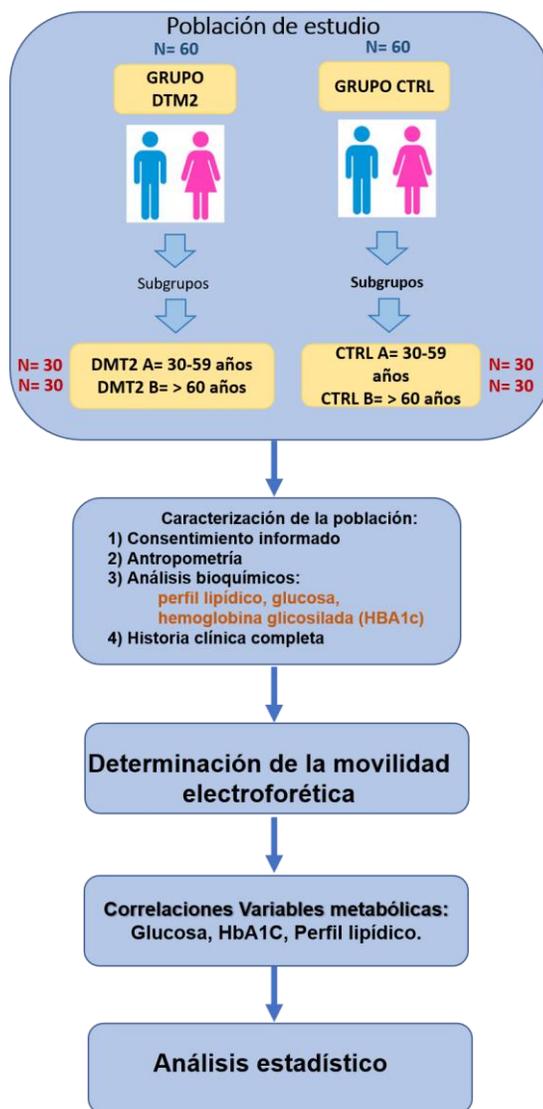
**Grupo control sano.** Se consideraron como sanos a los pacientes de 30-90 años (grupo A de 30- 60 años y grupo B de 60-90 años); sin diagnóstico de Diabetes, de sexo biológico, hombre o mujer. A su vez, en este grupo se excluirán a pacientes con Obesidad, Síndrome metabólico.

### **6.3.2 Criterios de eliminación**

Se eliminaron del estudio a aquellos pacientes de quienes no fue posible obtener la carta de consentimiento informado, por datos clínicos incompletos o muestra biológica inadecuada para el análisis molecular. A su vez, en este grupo se excluyeron participantes con obesidad o síndrome metabólico (Freeman & Pennings, 2021).

## 6.4 Diseño experimental

Se procederá acorde al siguiente esquema experimental.



**Figura 10:** Estrategia experimental.

## **6.5 Metodología**

Para poder llevar a cabo las mediciones correspondientes de potencial zeta, y caracterizar las variables metabólicas de la población de estudio, se debe seguir un protocolo establecido, que se explica en los siguientes apartados.

### **6.5.1 Historia Clínica**

Previo a la toma de muestra de sangre para obtención de plasma, se aplica la historia clínica con énfasis en los antecedentes personales patológicos, a fin de verificar los criterios de inclusión descritos. Para ello, se solicita a cada individuo la siguiente información: datos generales, hábitos alimentarios, actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol, antecedentes patológicos y heredo-familiares (formato en sección de Anexos).

### **6.5.2 Evaluación antropométrica**

Las mediciones antropométricas se llevaron a cabo siguiendo los procedimientos estandarizados por la sociedad internacional para el avance de la cineantropometría (ISAK). Todos los sujetos fueron medidos en un estadiómetro (SECA 213), sin zapatos, ligeros de ropa, con una aproximación de 0.1 cm para la altura. Para el análisis de composición corporal se utilizará una báscula electrónica (Tanita HS-302) mientras se encuentren descalzos y con ropa ligera, con una aproximación de 0.1 kg. Una vez obtenidos estos datos se calculará el índice de masa corporal (IMC). Posteriormente se clasificarán los valores obtenidos bajo los criterios de las tablas de IMC/Edad de la OMS, donde un IMC de 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup> se considera normopeso, IMC  $\geq$  25 sobrepeso e IMC  $\geq$  30 obesidad.

### **6.5.3 Toma de muestra de sangre y análisis bioquímico**

La toma de muestra de sangre periférica se realizará mediante punción venosa en condiciones de ayuno (12 horas). Para el análisis de la movilidad electroforética, la sangre se recolectará en el tubo con el aditivo EDTA K2, y para el suero, el tubo con activador de coagulación y gel de polímero separador. Se centrifugará a 3000 rpm durante 10 minutos. Los eritrocitos se obtienen de la capa inferior formada en el tubo con aditivo EDTA y se procede a medir la movilidad electroforética.

El suero será utilizado para los siguientes análisis bioquímicos: Química sanguínea y perfil de lípidos (triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol VLDL). La hemoglobina glicosilada A1c (HBA1c) se midió en una muestra de sangre total a partir del tubo con aditivo EDTA.

#### **6.5.4 Evaluación de Síndrome Metabólico (SM).**

Los criterios establecidos permiten, no solo tener un consenso en el diagnóstico de la población de estudio, sino una herramienta para la exclusión de pacientes aparentemente sanos (grupo CTRL) al tener alteraciones en dichos parámetros. Para el diagnóstico de SM, según el NCEP-ATP III, se toma en cuenta la alteración de tres o más de los criterios, dicha cantidad de alteraciones es similar a las implementadas por la AHA. Los criterios establecidos por la IDF se aplicarán con base en el aumento de la circunferencia de la cintura específicos de raza y género incluyéndose, al menos, dos factores de riesgo adicionales (NCEP-ATP III, 2002; IDF, 2005; Parikh, 2012; AHA, 2016).

#### **6.5.6 Determinación de la movilidad electroforética.**

Para las mediciones de movilidad electroforética se utilizó un Zetámetro 3.0+ (Figura 11), para partículas mayores a 1  $\mu\text{m}$  ya que este requiere de un microscopio óptico para realizar el rastreo de las partículas y subsecuentemente calcular su velocidad.



**Figura 11:** Zetámetro 3.0+ que se usará para medir la movilidad electroforética.

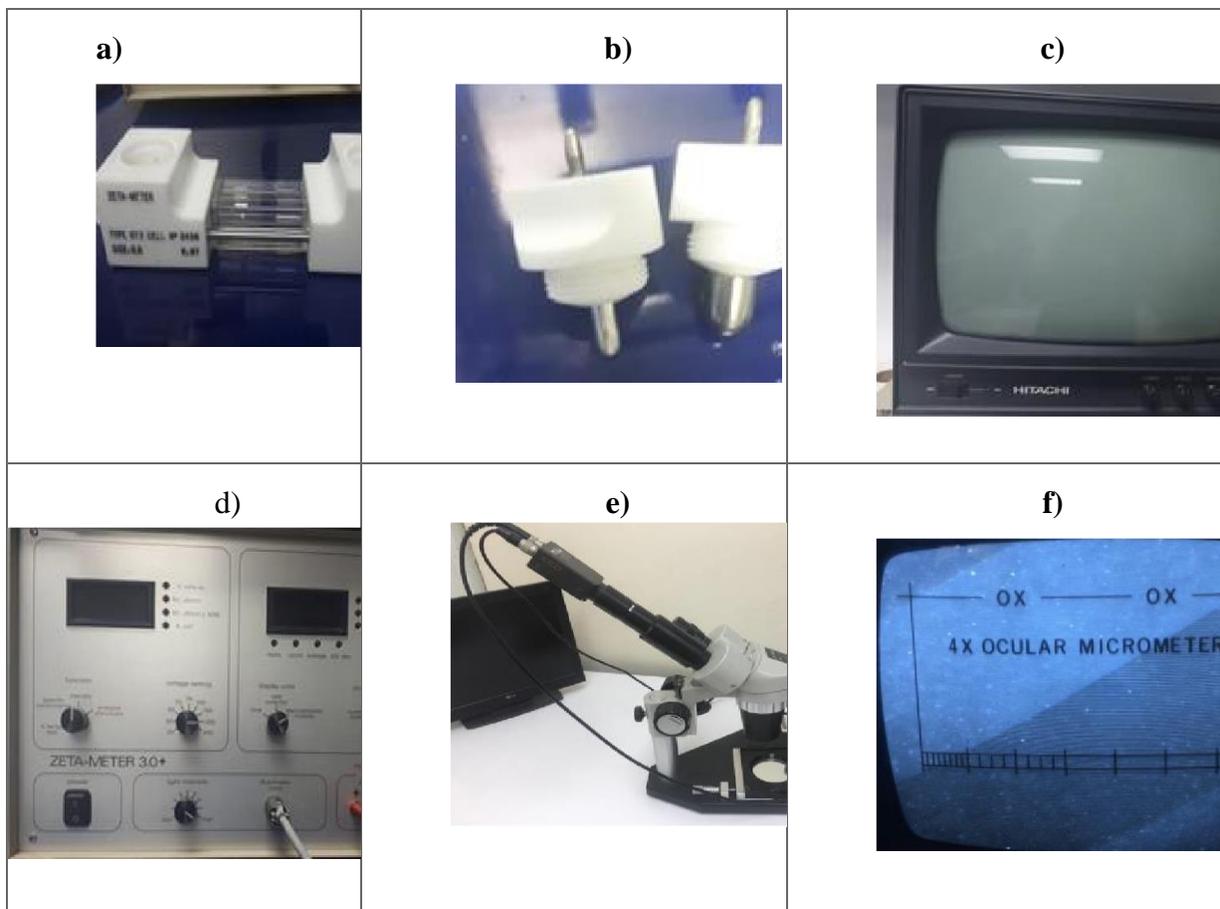
El montaje experimental consiste en:

- Celda electroforética (Type GT-2 cell, ver Figura 16 (a)). Mantiene la muestra para ver bajo el microscopio. Consiste en dos cámaras de electrodos conectadas por un tubo de electroforesis pulido ópticamente (10 cm de largo y 4 cm de diámetro). El cuerpo de la celda consta de dos secciones de politetrafluoroetileno (teflón) con una sección de cuarzo fundido en el centro. Cada sección de teflón contiene una porción del tubo de la celda y una cámara de electrodo. La sección central de cuarzo es para analizar las suspensiones coloidales utilizando el microscopio.
- Electrodo. Cada celda requiere dos electrodos, un ánodo y un cátodo. Usaremos un ánodo cilíndrico de molibdeno (ver Figura 10 (b)). Este electrodo fue diseñado para combinarse con el oxígeno gaseoso a medida que evoluciona desde el ánodo, evitando la migración de falsos coloides (debido a la producción de gas). Se puede usar con todas las muestras, sin embargo, cambia de un color metálico a azul-negro o negro debido a una capa de óxido creada durante su uso prolongado. El cátodo que utilizamos es un cátodo de barra de platino. El material de platino se puede usar para cualquier sistema sin limitación de conductancia específica. La capa de óxido no se crea con este material.
- Unidad de visualización. La pantalla muestra varios parámetros, tales como: número de coloides que se han rastreado, su potencial zeta promedio (o movilidad electroforética) y la desviación estándar estadística de los valores medidos (ver Figura 10 (c)). Además, se puede medir la temperatura y la conductancia específica promedio, luego se informan en la unidad de visualización. Consiste en:

1. Un botón On/Off.
2. Control del módulo del microscopio. La intensidad de luz se puede variar para mejorar la iluminación en la celda (variando el brillo).
3. Jacks de salida. Reciben los enchufes conectados a los cables del electrodo.
4. Interruptor de función. Este interruptor controla la fuente de alimentación y las opciones que controla son:
  - (a) Stand by: Envía la tensión de DC aplicada a las tomas de salida a cero.

- (b) Energizar electrodos: Energiza los electrodos al voltaje seleccionado (V).
- (c) Conductancia específica: energiza los jacks de salida para medir la conductancia específica de la muestra ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).
- (d) Prueba del factor K: Este lee el factor K usado para medir la conductancia específica de la celda de electroforesis. Esto puede variar dependiendo de la celda utilizada.
5. Interruptor de ajuste de voltaje. Con este interruptor, se puede seleccionar la tensión continúa aplicada (de 20 a 300 V).
6. Interruptor de unidades de visualización. La pantalla de datos puede mostrar los resultados de las medidas en tiempo (s), movilidad electroforética ( $\mu\text{m}/\text{s}$  por  $\text{V}/\text{cm}$ ) y unidades de potencial zeta (mV).
7. Interruptor micrométrico ocular. El ocular del microscopio tiene tres distancias de seguimiento diferentes (están impresas en el micrómetro ocular), completa, cuarto y ocho escalas. Esta escala se elige dependiendo de la velocidad del coloide.
8. Teclado. Se usa como un control para seleccionar el movimiento de las partículas.
- Módulo de microscopio. El módulo de microscopio utilizado en este trabajo se muestra en la Figura 10 (c). Es un microscopio Unitron FSB-4x con objetivos estándar 4x, oculares estándar 20x y aumentos de 80x. Para realizar el seguimiento de partículas, se acopla un CCD al microscopio (HITACHI KP-M2U) y las imágenes en tiempo real se observan usando un monitor de video (HITACHI VM-122OU). En la Figura 10 (d) se muestra una imagen de un experimento de calibración (partículas de sílice).

La celda de electroforesis se llena con la muestra ( $\approx 20\text{ml}$ ), luego se aplica un campo eléctrico y las partículas coloidales comienzan a migrar del ánodo al cátodo o del cátodo al ánodo (esta dirección indica si su carga eléctrica es positiva o negativa). La velocidad de los coloides es proporcional a su movilidad electroforética.



**Figura 12.** Montaje experimental del Zetámetro: a) Celda electroforética, b) Electrodos, c) Pantalla, d) Unidad de visualización, e) Módulo de microscopio, f) Monitor de video.

Las medidas de movilidad electroforética son directas y manuales.

### 6.7 Análisis estadístico

Primero, se comprobó si los datos obtenidos presentan una distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se calculó la media  $\pm$  desviación estándar como valor estándar de los datos descriptivos para cada individuo, para la diferencia de las medias obtenidas se utilizará la T-student y para las medianas la prueba de Mann-whitney. Las diferencias entre los grupos de estudio se calcularon mediante la prueba ANOVA kruskal-Wallis. Se determinó la correlación por la prueba Spearman. Dicho análisis estadístico se realizó en el programa Graphpad Prism, donde los valores de  $P < 0.05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## **VII. LUGAR DE REALIZACION**

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Enfermedades Crónico Neurodegenerativas en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

## **VIII. FINANCIAMIENTO**

-Fondo sectorial de investigación para la educación, SEP-CONACYT, beca con Núm. de CVU 1011913.

-Apoyo CONACYT por la beca expedida a lo largo del posgrado.

## **IX. RESULTADOS**

### **9.1 Población de estudio**

Con el objetivo de evaluar la carga eléctrica superficial de eritrocitos en pacientes con DMT2 y compararlo con un grupo control, se realizó el presente estudio de tipo comparativo, transversal y descriptivo; el cual incluye una población total de 106 individuos, de los cuales, 40 presentaron diagnóstico confirmado de DMT2, y 66 contemplados como controles (CTRL) al cumplir con los criterios de selección. A su vez, los grupos DMT2 y CTRL, fueron divididos en dos subgrupos: subgrupo A, que incluyó pacientes de 30-59 años y un subgrupo B, conformado por pacientes igual o mayores a los 60 años. Además, se realizaron las pruebas antropométricas, valoraciones de historia clínica con antecedentes heredo familiares (descrito en materiales y métodos), exámenes bioquímicos compuestos por perfil de lípidos, glucosa, hemoglobina glucosilada y biometría hemática.

Con estas evaluaciones, fue posible clasificar a los pacientes de acuerdo con los grupos antes mencionados, descartando a aquellos pacientes control cuya alteración pudiese clasificarles con SxMet y/o DMT2 no diagnosticados previamente.

### **9.2 Caracterización de las alteraciones metabólicas presentes en la población con DMT2**

Las alteraciones metabólicas de la población con DMT2, se pueden observar analizando las variables implicadas en la enfermedad, para esto se dividieron en variables antropométricas, bioquímicas de lípidos y de glucosa. Para el estudio de las variables relacionadas con los eritrocitos, se consideraron los resultados de la biometría hemática.

### 9.3 Características antropométricas de la población de estudio

Con los datos obtenidos de la caracterización clínica de los pacientes en estudio, se procedió al análisis de las variables antropométricas. Se puede observar para la variable edad (Tabla 2), que existe diferencia significativa de la media entre los grupos de comparación CTRL A versus DMT2 A. Sin embargo, al comparar los subgrupos CTRL B versus DMT2 B, no se encontró diferencia significativa de las medias, observando que la edad de los subgrupos DMT2 y CTRL B están dentro del rango de edad concentrado para la clasificación de todo el subgrupo B. Para la variable IMC, los pacientes del subgrupo DMT2 A ( $30.94 \pm 4.6$ ) mostraron un aumento significativo respecto a sus controles CTRL A ( $26.85 \pm 4.07$ ). Por su parte, los pacientes del subgrupo DMT2 B ( $30.3 \pm 4.76$ ) presentaron un IMC superior al compararse con el grupo CTRL B ( $26.88 \pm 3.8$ ). Por otro lado, en el porcentaje de grasa corporal, sus resultados no fueron estadísticamente significativos entre los individuos DMT2 y CTRL para cada subgrupo. Estos resultados, confirman que los pacientes con DMT2 presentan las alteraciones antropométricas esperadas y que los individuos CTRL realmente pueden ser considerados como referencia para posteriores mediciones.

**Tabla 2. Características antropométricas de los grupos estudiados.**

VARIABLE/ POBLACIÓN	CTRLA	DMT2 A	P	CTRL B	DMT2 B	P
Edad (años)	47.3 $\pm$ 9.53	51.77 $\pm$ 4.1	0.0064 <sup>a</sup>	67.91 $\pm$ 6.43	67.96 $\pm$ 4.76	0.6385
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26.85 $\pm$ 4.07	30.94 $\pm$ 4.6	0.0032 <sup>a</sup>	26.88 $\pm$ 3.8	30.3 $\pm$ 4.76	0.0113 <sup>a</sup>
Grasa total (%)	35.33 $\pm$ 7.45	39.84 $\pm$ 7.97	0.0559	38.44 $\pm$ 5.53	41.69 $\pm$ 7.7	0.0992

Los valores están representados como la media  $\pm$  D.E. El superíndice <sup>a</sup> expresa diferencias estadísticas significativas respecto al CTRL.

#### **9.4 Características bioquímicas de la población de estudio**

Los análisis bioquímicos, al igual que las variables antropométricas, se examinaron de acuerdo con el subgrupo de estudio, es decir, subgrupo A (CTRL A y DMT2 A) y subgrupo B (CTRL B y DMT2 B).

Las variables metabólicas de lípidos fueron analizadas tomando en cuenta los valores de colesterol total, HDL, LDL, VLDL y triglicéridos (Tabla 6). Se observa que el subgrupo DMT2 A ( $201.7 \pm 31.41$ mg/dL) presentó niveles de colesterol total significativamente más bajos respecto al subgrupo CTRL A ( $182.6 \pm 36.42$  mg/dL) (Tabla 3).

Observando que el subgrupo DMT2 A ( $44.54 \pm 11.57$  mg/dL) presentó niveles de colesterol HDL significativamente más bajos respecto al subgrupo CTRL A ( $52.74 \pm 13.21$  mg/dL). De igual manera, el subgrupo DMT2 B ( $42.11 \pm 11.51$  mg/dL) presentó niveles bajos significativos respecto al subgrupo CTRL B ( $52.96 \pm 10.02$  mg/dL) (Tabla 3). Sin embargo, aunque se encontraron niveles más bajos de HDL en el grupo con DMT2, pudo observarse que los valores de ambos subgrupos (A y B), se encontraron dentro del rango de normalidad entre 40-60 mg/dL. Los niveles de colesterol LDL, se observan sin diferencias estadísticamente significativas entre el subgrupo DMT2 A y el subgrupo CTRL A (Tabla 3), el grupo CTRL se encuentra fuera de los valores óptimos reportados para esta variable, correspondientes a un rango menor a 100 mg/dL. En los niveles de VLDL, solo se encontró un aumento significativo en el subgrupo DMT2 A ( $33.23 \pm 9.94$  mg/dL) respecto al CTRL A ( $26.62 \pm 15.53$  mg/dL). Similar resultado se observa al comparar el subgrupo DMT2 B ( $34.21 \pm 16.95$  mg/dL) y CTRL B ( $25.70 \pm 12.48$  mg/dL) (Tabla 3).

Al analizar los valores de triglicéridos en el subgrupo DMT2 (DMT2 A  $166.2 \pm 49.72$  y DMT2 B  $175.4 \pm 79.1$  mg/dL) se encontraron elevados respecto al valor óptimo de referencia reportado ( $<150$  mg/dL) (Tabla 3).

**Tabla 3. Análisis de perfil lipídico de los grupos de estudio.**

VARIABLE/ POBLACIÓN	CTRL A	DMT2 A	P	CTRL B	DMT2 B	P
CT (mg/dL)	$182.6 \pm 36.42$	$201.7 \pm 31.41$	0.0363 <sup>a</sup>	$197.2 \pm 48.77$	$173.7 \pm 56$	0.806
c-HDL (mg/dL)	$52.74 \pm 13.21$	$44.54 \pm 11.57$	0.0390 <sup>a</sup>	$52.96 \pm 10.02$	$42.11 \pm 11.51$	0.0015 <sup>a</sup>
c-LDL (mg/dL)	$110.3 \pm 32.77$	$123.9 \pm 29.5$	0.1458	$118.6 \pm 43.96$	$98.6 \pm 50.94$	0.1189
VLDL (mg/dL)	$26.62 \pm 15.53$	$33.23 \pm 9.94$	$<0.0001^a$	$25.70 \pm 12.48$	$34.21 \pm 16.95$	0.0351 <sup>a</sup>
Triglicéridos (mg/dL)	$133.1 \pm 77.66$	$166.2 \pm 49.72$	$<0.0001^a$	$129.5 \pm 57.51$	$175.4 \pm 79.1$	0.0369 <sup>a</sup>

Los valores están representados como la media  $\pm$  D.E. El superíndice <sup>a</sup> expresa diferencias estadísticas significativas respecto al CTRL.

Por otra parte, en el metabolismo de la glucosa, se estudiaron las variables glucosa y hemoglobina glucosilada (HBA1c) (Tabla 4). Con ello, de acuerdo con la estimación teórica, se observó aumento significativo en los niveles de glucosa en DMT2 A ( $151.1 \pm 62.36$  mg/dL) respecto al CTRL A ( $88.23 \pm 7.42$  mg/dL) y en DMT2 B ( $109.4 \pm 39.96$  mg/dL) respecto al CTRL B ( $89.83 \pm 8.05$  mg/dL). En estos resultados puede observarse que la glucosa del subgrupo DMT2 A se encuentra elevada para los niveles óptimos de control, los cuales no deben elevarse a 130 mg/dL (Tabla 4).

Los valores de la hemoglobina glucosilada (HbA1c), cuyos niveles son el reflejo del promedio ponderado al tener una contribución diferente cada mes (50% correspondiente al primer mes anterior a la toma y 25% para el segundo y tercer mes anterior) durante los últimos 3 a 4 meses, pudieron verse reflejados en los parámetros presentados por todo el subgrupo DMT2, obteniendo diferencias significativas al comparar los subgrupos CTRL A ( $5.735 \pm 0.56$  mg/dL) versus DMT2 A ( $7.7 \pm 1.83$  mg/dL) y CTRL B ( $5.65 \pm 0.5$  mg/dL) versus DMT2 B ( $7.1 \pm 1.25$  mg/dL) observando que los controles muestran niveles óptimos del control del metabolismo de la glucosa.

**Tabla 4. Análisis de perfil glucémico de los grupos estudiados.**

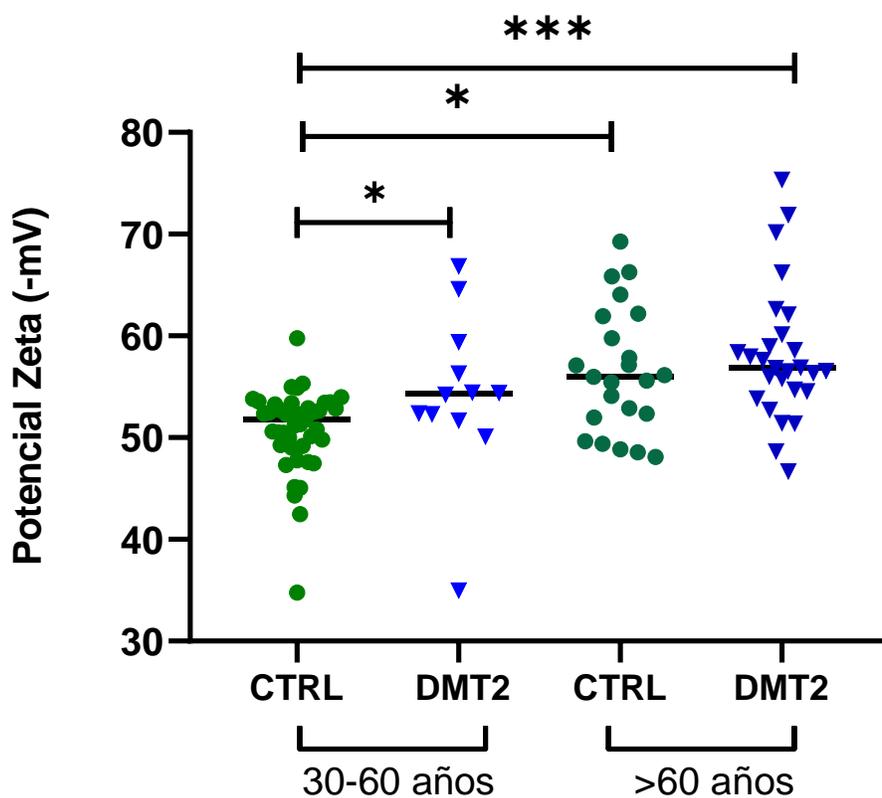
VARIABLE/ POBLACIÓN	CTRL A	DMT2 A	P	CTRL B	DMT2 B	P
Glucosa (mg/dL)	$88.23 \pm 7.42$	$151.1 \pm 62.36$	$<0.0001^a$	$89.83 \pm 8.05$	$109.4 \pm 39.96$	$0.0035^a$
Hemoglobina glucosilada (HbA1c) (%)	$5.735 \pm 0.56$	$7.7 \pm 1.83$	$<0.0001^a$	$5.65 \pm 0.5$	$7.1 \pm 1.25$	$<0.0001^a$

Los valores están representados como la media  $\pm$  D.E. El superíndice <sup>a</sup> expresa diferencias estadísticas significativas respecto al CTRL.

### **9.5 Mediciones de la carga eléctrica (potencial zeta) superficial de los eritrocitos en la población control y en pacientes con DMT2**

A partir de las mediciones de potencial zeta (ZP) de los eritrocitos, realizado con un equipo Zetámetro, se analizaron estadísticamente los datos obtenidos, rastreando alrededor de 30 células por experimento, el cual se repitió 3 veces por cada muestra de estudio, logrando obtener los valores de alrededor de 90 eritrocitos por cada muestra. Los datos fueron organizados para encontrar un solo valor ZP promedio para cada paciente, excluyendo los datos atípicos debidas

a los errores de medición. La Figura 13 muestra el análisis global del comportamiento de ZP de cada grupo de estudio, se observó que en el grupo de DMT2 los valores de esta variable muestran un valor más alto negativamente, respecto al grupo CTRL. El mismo efecto se observó cuando se realizó la división por subgrupos: DMT2 B vs CTRL B ( $P= 0.0073$ ), como se muestra en la Figura 13. No obstante para el grupo de adultos mayores de 60 años, no se encontró diferencia significativa, esto se debe a las condiciones alteradas por la edad en este grupo. Además, se observó que la edad es una variable que influye en el comportamiento de ZP, ya que, en los grupos de pacientes mayores de 60 años, se obtuvo valores mayores de carga eléctrica, en comparación con el grupo de adultos jóvenes.



**Figura 13.** Potencial Zeta de eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Para cuantificar los valores de ZP, se hicieron mediciones en un equipo Zetámetro 3.0+, a partir de eritrocitos de la población, clasificando de acuerdo con el grupo, fuese grupo control (CTRL o grupo con diabetes (DMT2). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

### **9.6 Análisis del efecto de las alteraciones metabólicas presentes en la población con DMT2 sobre la carga eléctrica superficial de los eritrocitos**

Una vez analizado el perfil del potencial zeta de eritrocitos en los pacientes, se procedió a determinar si existe relación con los valores para las variables antropométricas, bioquímicas y de biometría hemática. Para lo cual, se realizó un macro análisis de correlación cruzando los valores de ZP en cada grupo con las variables clínicas.

En el caso del ZP, para las variables antropométricas, se encontró que están correlacionadas negativamente con el IMC ( $P = 0.0000$ ,  $r = -0.4368$ ) en toda la población del grupo CTRL, la variable de % de grasa corporal tiene correlación positiva con los valores de ZP ( $P = 0.0468$ ,  $r = 0.4187$ ) en la población del subgrupo CTRL B (Tabla 5).

Para las variables bioquímicas de perfil de lípidos, se encontró que los valores de ZP correlacionan negativamente con los niveles de colesterol HDL tanto para el grupo de DMT2 total ( $P = 0.0134$ ,  $r = -0.388$ ), como para el subgrupo DMT2 B ( $P = 0.0129$ ,  $r = -0.666$ ) (Tabla 5).

En los valores del perfil de glucosa, se encontró una correlación positiva en los valores de glucosa para toda la población del grupo CTRL ( $P = 0.015$ ,  $r = 0.298$ ) y se observó el mismo comportamiento con los valores de glucosa para el subgrupo CTRL B ( $P = 0.0007$ ,  $r = 0.6521$  Tabla 5).

Por otra parte, se observó que, en la biometría hemática, los valores de ZP se correlacionan positivamente con los valores de Hemoglobina tanto para la población del grupo CTRL ( $P=0.036$ ,  $r=0.259$ ) como para la población del subgrupo CTRL B ( $P=0.0220$ ,  $r=0.4748$ ). Además, se encontró que los valores de hematocrito están correlacionados positivamente con el ZP en el subgrupo CTRL B ( $P=0.027$ ,  $r=0.4594$ ) y por último se encontró que el V.M.P tiene correlación positiva con los valores de ZP para la población del grupo CTRL ( $P=0.014$ ,  $r=-0.3012$ ) (Tabla 5).

Los resultados obtenidos indican que hay mecanismos no lineales que vinculan los valores de carga eléctrica (ZP) con las variables antropométricas que reflejan la composición corporal, o con variables bioquímicas principalmente relacionadas al metabolismo de la glucosa en la población catalogada con CTRL.

**Tabla 5. Análisis de correlación entre los valores de Potencial Zeta con parámetros clínicos en las diferentes conformaciones de los grupos de estudio**

VARIABLE/ POBLACIÓN	CTRL A	CTRL B	CTRL	DMT2 A	DMT2 B	DMT2
<b>Variables antropométricas</b>						
Edad (años)	-	-	0.0000 $r = -0.4368$	-	-	-
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	-	0.0468 $r = 0.4187$	-	-	-	-
Grasa total (%)	-	-	-	-	-	-
<b>Perfil lipídico</b>						
CT (mg/dL)	-	-	-	-	-	-
c-HDL (mg/dL)	-	-	-	0.0129 $r = -0.666$	-	0.0134 $r = -0.388$
c-LDL (mg/dL)	-	-	-	-	-	-
VLDL (mg/dL)	-	-	-	-	-	-
Triglicéridos (mg/dL)	-	-	-	-	-	-
<b>Glucosa</b>						
Glucosa (mg/dL)	-	0.0007 $r = 0.6521$	0.015 $r = 0.298$	-	-	-
(HbA1c) (%)	0.0125 $r = 0.3822$	-	-	-	-	-

Significado de abreviaturas: CTRL A, subgrupo control A; CTRL B, subgrupo control B; CTRL, grupo control general; DMT2 A, subgrupo con diabetes A; DMT2 B, subgrupo con diabetes B; DMT2, grupo con diabetes general. Los datos fueron analizados mediante la prueba de Pearson ( $p \leq 0.05$ ) para determinar la correlación entre las variables mencionadas en las diferentes conformaciones grupales con los valores de ZP.

**Tabla 6. Análisis de correlación entre los valores de Potencial Zeta con parámetros de Biometría Hemática en las diferentes conformaciones de los grupos de estudio**

VARIABLE/ POBLACIÓN	CTRL A	CTRL B	CTRL	DMT2 A	DMT2 B	DMT2
<b>Perfil biometría hemática</b>						
Leucocitos( $\mu\text{L}/\times 10^6$ )	-	-	-	-	-	-
Eritrocitos( $\mu\text{L}/\times 10^6$ )	-	-	-	-	-	-
Hemoglobina (g/dL)	-	0.0220 $r= 0.4748$	0.036 $r= 0.259$	-	-	-
Hematocrito (%)	-	0.027 $r= 0.4594$	-	-	-	-
V.C.M (fL)	-	-	-	-	-	-
H.C.M (g/dL)	-	-	-	-	-	-
C.H.C.M (g/dL)	-	-	-	-	-	-
Dist. Eritrocitos (%)	-	-	-	-	-	-
Plaquetas ( $\mu\text{L}/\times 10^3$ )	-	-	-	-	-	-
V.M.P (fL)	-	-	0.014 $r= -0.3012$	-	-	-

Significado de abreviaturas: CTRL A, subgrupo control A; CTRL B, subgrupo control B; CTRL, grupo control general; DMT2 A, subgrupo con diabetes A; DMT2 B, subgrupo con diabetes B; DMT2, grupo con diabetes general. Los datos fueron analizados mediante la prueba de Pearson ( $p \leq 0.05$ ) para determinar la correlación entre las variables mencionadas en las diferentes conformaciones grupales con los valores de ZP.

## X. DISCUSIÓN

La diabetes mellitus tipo 2, se considera como uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, por su elevada prevalencia, su alto coste económico y el número de complicaciones y muertes que provoca. Sin embargo, a pesar de que se trata de un proceso muy complejo desde el punto de vista fisiopatológico, los estudios enfocados a esta enfermedad tienen la necesidad de un abordaje más amplio, considerando la enorme variabilidad interindividual implicada en la evolución y respuesta terapéutica (Atlas, 2006). El estudio de una variable fisicoquímica como la carga eléctrica, en un sistema vivo y más aun considerando una población con una enfermedad progresiva multifactorial, se torna muy complejo, pues se desconoce el comportamiento de este parámetro en las diversas condiciones metabólicas en las que se puede hallar un paciente con DMT2, e inclusive el grupo clasificado como control, hay muchas variables que pueden estar influyendo en el comportamiento del potencial zeta.

Cada grupo de estudio fue analizado mediante parámetros antropométricos y pruebas bioquímicas de laboratorio. Esta caracterización permitió verificar que el grupo CTRL efectivamente se encontrara metabólicamente sano, pues es el grupo de referencia para normalizar los valores de ZP.

La obesidad es un factor ambiental importante involucrado no solo en la etiopatogenia la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), sino también en el desarrollo de sus complicaciones (Chobot et al., 2018), esto se pudo observar en los adultos jóvenes (subgrupo DMT2 A), donde se encontraron alterados los parámetros de IMC y porcentaje de grasa corporal. Esto indica que es más probable desarrollar complicaciones crónicas a temprana edad y no necesariamente tener anomalías en el metabolismo de la glucosa (Muñoz, et al., 2013)

Para los pacientes con envejecimiento, el subgrupo DMT2 B conserva alteración en las variable IMC; estos resultados coinciden con reportes previos que remarcan el papel del sobrepeso y la obesidad en el adulto mayor como factores desencadenantes de la diabetes mellitus tipo 2 (Sánchez, et al., 2020).

Respecto al análisis de variables bioquímicas en las poblaciones de estudio, se encontró significancia estadística en los niveles de colesterol total (CT) en el grupo de adultos jóvenes. En los valores de triglicéridos se encontraron aumento significativo para el grupo DMT2. De acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-037-SSA2-2002 para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, los niveles limítrofes de triglicéridos (TAG) para la población mexicana deben oscilar por debajo <150 mg/dL (NOM-037-SSA2-2012, 2012), indicando que todo el grupo con DMT2 muestran valores mayores de este parámetro reportado y que sus respectivos controles.

Los resultados obtenidos para el grupo DMT2, considerando el metabolismo de la glucosa se observaron des regularidades del metabolismo de esta variable; al presentar glucosa plasmática en ayuno (GPA) elevada, hemoglobina glucosilada (HbA1c) fuera de los límites aceptables.

El rango óptimo de los valores GPA para un paciente controlado oscila entre 80-130 mg/dL una vez que ya se tiene el diagnóstico (Muñoz Calvo, 2021). Esto coincide con los valores obtenidos en el subgrupo DMT2 B, ya que se observó una elevación en los valores de esta variable, sin embargo, para los pacientes del subgrupo DMT2 A, se encontró que cae en el rango óptimo para pacientes controlados.

Para los valores de HbA1c, existen reportes que indican que valores superiores al 7% representan una relación directa con el riesgo de complicaciones (Aguirre Amaya, 2021), como

enfermedades cardiovasculares (ECV) (Schnell et al., 2017), retinopatía diabética (Martínez et al., 2020), nefropatía diabética y neuropatía.

Los valores obtenidos de la biometría hemática mostraron que hay diferencia significativa en la población de pacientes del subgrupo DMT2 B respecto al subgrupo CTRL B, en las variables de Eritrocitos, V.C.M, Distribución de Eritrocitos y Plaquetas.

Los valores encontrados de las mediciones de potencial zeta de los eritrocitos en pacientes del grupo DMT2, muestra diferencia significativa respecto al grupo CTRL, aun cuando los valores en magnitud no sean muy diferentes, se observó que los eritrocitos en pacientes diabéticos tienen valores de carga eléctrica superficial mayores respecto a los individuos control.

## **XI. CONCLUSIONES**

En el presente proyecto, se encontró que en un contexto patológico de diabetes mellitus tipo 2, los valores de carga eléctrica superficial de los eritrocitos se ven afectados, para la población del grupo con DMT2 se obtuvieron valores de Potencial Zeta (ZP) más elevados negativamente.

El análisis de resultados indica una diferencia significativa en los valores de ZP para los grupos de pacientes con DMT2, tanto en el grupo de pacientes mayores de 60 años, como en la población de individuos de entre 30 y 59 años.

Además, se encontró que los pacientes con DMT2 presentan un cuadro clínico de alteraciones metabólicas que incluye la presencia de obesidad, niveles de glucosa elevada y perfil de lípidos alterado.

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amos, A. F., McCarty, D. J., & Zimmet, P. (1997). The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabetic medicine*, 14(S5), S7-S85.
- Bianchetti, Flavio Di Giacinto, Dario Pitocco, Alessandro Rizzi, Gaetano Emanuele Rizzo, Francesca De Leva, Andrea Flex, Enrico di Stasio, Gabriele Ciasca, Marco De Spirito, Giuseppe Maulucci. (2029). Red blood cells membrane micropolarity as a novel diagnostic indicator of type 1 and type 2 diabetes, *Analytica Chimica Acta: X*, Volume 3.
- Bruselas, Bélgica: Federación Internacional de Diabetes, 2019. <https://www.diabetesatlas.org>.
- Buys, AV, Van Rooy, MJ, Soma, P., Van Papendorp, D., Lipinski, B. y Pretorius, E. (2013). Cambios en la estructura de la membrana de los glóbulos rojos en la diabetes tipo 2: un estudio de microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica. *Diabetología cardiovascular*, 12 (1), 1-7.
- Carr, J. H., & Rodak, B. F. (2010). Atlas de hematología clínica/Clinical Hematology Atlas. Ed. Médica Panamericana.
- Carrillo Farga, J. & Amador Guerrero, María Teresa., Maduración de las células sanguíneas. Editorial Cybercell. 2007.
- Castellanos Jaime, Y. E., & Galindo Moreno, C. C. (2021). Análisis de la espectroscopia Raman para la detección de la diabetes.
- Caunedo Almagro, P. (2005). Alteraciones de la hemostasia en la diabetes mellitus. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 21(1), 0-0.
- Cipriani-Thorne, E., & Quintanilla, A. (2010). Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina. *Revista Médica Herediana*, 21(3), 160-171.
- Chien, S., Sung, L. A., Simchon, S., Lee, M. M., Jan, K. M., & Skalak, R. (1983). Energy balance in red cell interactions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 416, 190-206.
- Costanzo LS. Fisiología. 1ª ed. Méjico: McGraw-Hill Interamericana; 2000.
- De León, P. P., Biondi, C., & Valverde, J. (2010). Efecto producido por *Ascaris lumbricoides* sobre la carga superficial eritrocitaria utilizando el Método de Polibrene. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 44(4), 689-696.

- Delgado, A. D. L., Rodríguez, J. M. R., Cruz, M. G., Barreto, R. A. D. O., & Raya, J. M. Hemólisis en paciente diabético. Reporte de un caso. 21, 56.
- Deray, G., Heurtier, A., Grimaldi, A., Vacher, VL y Bagnis, CI (2004). Anemia y diabetes. Revista estadounidense de nefrología, 24 (5), 522-526.
- Desouky, O. S. (2009). Rheological and electrical behavior of erythrocytes in patients with diabetes mellitus. Rom J Biophys, 19(4), 239-250.
- Díaz-Flores, M., Baiza-Gutman, L. A., Ibáñez-Hernández, M. Á., Pascoe-Lira, D., Guzmán-Greenfel, A. M., & Kumate-Rodríguez, J. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. Gaceta médica de México, 140(4), 437-448.
- Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la Diabetes de la FID, 9ª edición. Fernandes, HP, Cesar, CL y Barjas-Castro, MDL (2011). Propiedades eléctricas de la membrana de los glóbulos rojos e investigación inmunohematológica. Revista brasileira de hematologia e hemoterapia, 33 (4), 297-301.
- Guyton AC. Tratado de Fisiología Médica. 11ª ed. Madrid: Elsevier España. 2006.
- Hayakawa, E. H., Kobayashi, S., & Matsuoka, H. (2015). Physicochemical aspects of the Plasmodium chabaudi-infected erythrocyte. BioMed research international, 2015.
- Hernández, J. C., Puig, M. E. L., García, P. H., Marcel, E. A. A., & Quesada, M. Y. (2011). Estrés oxidativo y diabetes mellitus. Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio, 58(1), 4-15.
- IDF DA. International Diabetes Federation. 2019;9th edn. Brussels.
- Imam, K. (2013). Características clínicas, criterios diagnósticos y patogenia de la diabetes mellitus. Diabetes. 340-355.
- Karemore, M. N., & Avari, J. G. (2018). Zeta potential as a novel diagnostic tool for preeclampsia. Pregnancy hypertension, 13, 187-197.
- Karp, G. (2009). Biología Celular y Molecular. 5ª edición McGraw-Hill Interamericana.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (1997). Histología: texto y atlas (p. 506). Ciudad de Mexico: McGraw-Hill.

- López García, J. D. L. Á. (2020). Alteraciones Hematológicas en Pacientes con Diabetes Magazine. (05 de septiembre de 2019). Diabetes and anemia. Obtenido de Diabetes and anemia.: <https://soluciones para la diabetes>.
- Majno, G. y Joris, I. (2004). Células, tejidos y enfermedad: principios de patología general. Prensa de la Universidad de Oxford.
- Mantilla, C., Pedraza, J., & LAVERDE, D. (2008). Utilización de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespático. *Dyna*, 75(154), 65-71.
- Mellitus, D. (2005). Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus. *Cuidado de la diabetes*, 28 (S37), S5-S10.
- Mellitus Tipo II (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua).
- Mohandas, N. (1991). The red blood cell membrane. *Hematology: basis, principles and practice*. Churchill-Livingstone, New York, 264-269.
- Molina, A. M. (2003). Propiedades electrocinéticas de sistemas coloidales modelo: efecto del tamaño iónico (Doctoral dissertation, Universidad de Granada).
- Pollack, W. y Reckel, RP (1977). Una reevaluación de las fuerzas implicadas en la hemaglutinación. *Archivos internacionales de alergia e inmunología*, 54 (1), 29-42.
- Rizo Sánchez, M., & Sandoval Rojas, K. (2016). Comportamiento clínico-epidemiológico de la diabetes mellitus, en niños y adolescentes atendidos en consulta externa, Hospital Manuel de -Jesús Rivera La Mascota durante Enero 2012-Junio 2014 (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua).
- Rouger, P., & Salmon, C. (1981). *La pratique de l'agglutination des érythrocytes et du test de coombs*. Masson.
- Sanhueza, M. L., Concha, L. L., Durruty, A. P., & García de los Ríos, A. M. (2014). Alteraciones hematológicas en la diabetes mellitus. *Rev Chil Endocrinol Diabetes*, 7(4), 137-42.
- Samuilovich D, Matijevic E, Derjaguin BV. 1974. *Surface and Colloid Science: Vol. 7*. New York: ed. Matijevic, E. 472p.
- Tabeling, P. (2005). *Introduction to Microfluidics* Oxford University Press.

-Thomas CC, Philipson LH. Update on diabetes classification. *The Medical clinics of North America*. 2015;99(1):1-16.

-Virtue, MA, Furne, JK, Nuttall, FQ y Levitt, MD (2004). Relación entre la concentración de GHb y la supervivencia de los eritrocitos determinada a partir de la concentración de monóxido de carbono en el aliento. *Cuidado de la diabetes*, 27 (4), 931-935.

### XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

#### Primer semestre 2021

Actividades	Mes	Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero			
	Semana	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Revisión Bibliográfica.																								
2	Caracterización de muestras por grupos de DM2 y Controles.																								
3	Medición de la movilidad electroforética de glóbulos rojos de poblaciones de estudio, 1er. Bloque (Población 30-60 años).																								
4	Correlación de la caracterización y los valores obtenidos en el estudio electrocinético 1er. Bloque.																								

#### Segundo semestre 2022

Actividades	Mes	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio			
	Semana	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
5	Revisión Bibliográfica.																								
6	Medición de la movilidad electroforética de glóbulos rojos de poblaciones de estudio, 2do. Bloque (Población 60-90 años).																								
7	Correlación de la caracterización y los valores obtenidos en el estudio electrocinético 2do. Bloque.																								
8	Análisis y Discusión de Resultados.																								
9	Escritura de tesis																								
10	Examen de grado																								

## XIV. ANEXOS

### Anexo 1: Carta de consentimiento informado

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA: Uso de información personal y clínica, medición antropométrica y toma de muestra de sangre

Estimado(a) Señor/Señora: \_\_\_\_\_ No  
registro: \_\_\_\_\_

#### **Introducción/Objetivo:**

la Red de Investigación Aplicada en Bienestar (RIABI) y el Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud (CIDOCS), ambos pertenecientes a la Universidad Autónoma de Sinaloa, realizan en colaboración el proyecto titulado: *“Efecto de alteraciones metabólicas en la carga eléctrica superficial de eritrocitos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2”*. El objetivo del estudio caracterizar propiedades bioquímicas, hematológicas y estructurales en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

#### **Procedimientos:**

Si usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

- Proporcionará información personal y clínica, a través de una encuesta. La encuesta consistirá en las siguientes secciones: datos generales, antropometría (resultados de evaluación), hábitos alimenticios, química sanguínea (resultados del análisis de una muestra de sangre), actividad física, consumo de tabaco, consumo de alcohol, nivel socioeconómico, antecedentes patológicos y antecedentes heredo-familiares. Este procedimiento será de manera paralela a una valoración médica general.
- Se le realizarán mediciones antropométricas con un estadiómetro (talla), cinta métrica (circunferencias) y equipo de impedancia eléctrica (para medir %grasa, masa muscular, IMC entre otras); procedimientos que no comprometen su estado de salud y que ayudarán a entender mejor su estado antropométrico con fines de investigación.
- Se le hará una toma de muestra sanguínea para determinación bioquímica de urea, creatinina, glucosa, perfil lipídico, hemoglobina glucosilada; aunado a un análisis de biometría hemática.
- En la misma toma proporcionará una segunda muestra de sangre periférica (15 mL aproximadamente), distribuida en dos tubos (uno para obtener suero y otro tubo para obtener un paquete celular para obtención de ADN genómico y plasma). Dicha muestra formará parte de un banco de sueros/plasma y ADN genómico de pacientes; el cual será utilizado para

determinar biomarcadores relacionados a metabolismo y/o del estado de salud. Esto no representa un riesgo adicional para su salud.

**Beneficios:** Con su participación en esta investigación se le proporcionarán resultados del análisis antropométrico y de química sanguínea. Así mismo, contribuirá con los investigadores responsables en la generación de conocimiento que contribuya al desarrollo de estrategias terapéuticas para un envejecimiento saludable integral.

**Confidencialidad:** Toda la información que proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Quedará identificado(a) con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado(a).

**Riesgos Potenciales/Compensación:** Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son mínimos. Si alguna de las preguntas le hiciera sentir un poco incómodo(a), tiene el derecho de no responderla. En la toma de muestra de sangre, puede haber un riesgo mínimo como un pequeño moretón y/o pequeño dolor en el momento de la toma. Se le hace notificar que el material que se utilizará es nuevo y desechable. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted.

**Participación Voluntaria/Retiro:** La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en cómo le tratan al acudir a su atención médica.

**Números a Contactar:** Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el/la investigador/a responsable del proyecto: Dra. Carla Ernestina Angulo Rojo (6671 88 81 45). Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

## CONSENTIMIENTO PARA SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Su firma indica su aceptación para participar voluntariamente en el presente estudio.

<b>Nombre del participante:</b>
_____
No. Registro: _____ Fecha: ____/____/____ Firma*:
_____
<b>*En caso de incapacidad para firmar, firma del tutor o familiar.</b>
<b>Nombre Completo del Testigo 1:</b>
_____
Dirección
_____
Fecha: ____/____/____ Relación con el participante _____ Firma:
_____
<b>Nombre Completo del Testigo 2:</b>
_____
Dirección
_____
Fecha: ____/____/____ Relación con el participante _____ Firma:
_____
<b>Nombre de la persona que obtiene el consentimiento:</b>
_____
Fecha: ____/____/____ Relación con el participante _____ Firma:
_____

## Anexo 2: Cuestionario de historia clínica

DATOS GENERALES			
Fecha: ___ / ___ / ___		Nombre:	
Registro:		Domicilio:	
Ocupación:			
Fecha de Nacimiento: ___/___/___		Lugar de Nacimiento:	
Edad:		Estado civil:	Lengua:
E-mail:		Tel. particular:	Tel. celular:
Escolaridad:	Servicio de salud:	Transporte:	Vivienda (propia o renta):
CONSUMO TABACO			
1. ¿Actualmente fuma? SI ___ NO ___	2. ¿Ha fumado por más de 6 meses alguna vez en su vida? SI ___ NO ___	3. Periodo durante el cual fumó:	4. ¿Cuánto tiempo pasa entre que se levanta y fuma su primer cigarrillo? ___ Hasta 5 minutos (3 pts.) <i>f</i> ___ Entre 6 y 30 minutos (2 pts.) ___ De 31 - 60 minutos (1 pts.) <i>f</i> ___ Más de 60 minutos (0 pts.)
5. ¿Encuentra difícil no fumar en lugares donde está prohibido? ___ Sí (1 pts.) <i>f</i> ___ No (0 pts.)	6. ¿Qué cigarrillo le molesta más dejar de fumar? <i>f</i> ___ El primero de la mañana. (1 pts.) <i>f</i> ___ Cualquier otro (0 pts.)	7. ¿Cuántos cigarrillos fuma cada día? ___ <i>f</i> ___ 10 ó menos (0 pts.) ___ 11 – 20 (1 pts.) <i>f</i> ___ 21 – 30 (2 pts.) ___ 31 o más (3 pts.)	8. ¿Fuma con más frecuencia durante las primeras horas después de levantarse que durante el resto del día? <i>f</i> ___ Sí (1 pts.) <i>f</i> ___ No (0 pts.)
Fagerström Score:		Índice Tabáquico:	
OBSERVACIONES:			
CONSUMO ALCOHOL			
1. ¿Actualmente consume alcohol? SI ___ NO ___	2. ¿Ha consumido alcohol alguna vez en su vida? SI ___ NO ___	3. ¿Hace cuanto tiempo empezó a consumir alcohol? ___ Menos de 1 año ___ 1 año ___ Más de 1 año ___ Entre 3 y 5 años ___ Más de 5 años ___ Más de 10 años	
4. ¿Cual es o era su consumo de alcohol? ___ Diariamente ___ Semanalmente ___ Mensualmente ___ Ocasional		Especifique Frecuencia _____ Cantidad _____ Tiempo _____	
OBSERVACIONES:			
ACTIVIDAD FÍSICA			
¿Realiza algún tipo de actividad física? SI ___ NO ___		¿De qué tipo?	
Horas x día:		Veces por semana:	
¿Presenta alguna incapacidad para realizar actividad física? ¿Presentas o has tenido algún problema óseo que te impida realizar un programa de actividad física? Operación en brazos, piernas o cadera: Si ___ No ___			

¿Alguna otra cirugía? Si _____ No _____ ¿Donde? _____	
¿Le impide hacer ejercicio? Si _____ No _____	
Observaciones:	
<b>ANTECEDENTES PATOLÓGICOS</b>	
<b>DIABETES MELLITUS</b>	
¿Padece DM? SI ___ NO ___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ Edad diagnóstica: ___ Glucemia promedio último año: _____ mg/dL	Tratamiento(dosis)/ Observaciones:
<b>OBESIDAD</b>	
¿Padece obesidad? SI ___ NO ___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ Edad diagnóstico: _____	Peso máximo: _____ Kg Edad: _____ Peso mínimo: _____ Kg Edad: _____ Peso habitual: _____ Kg Cambios crónicos de peso: SI ___ NO ___
Tratamiento(dosis): Observaciones:	
<b>TENSIÓN ARTERIAL</b>	
Actual: _____ mmHg ¿Padece hipertensión arterial? SI ___ NO ___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ Edad: ___ %SpO2: _____ PRbpm Pulso: _____	Tratamiento para HTA (dosis): ¿Qué valores maneja? /Observaciones:
<b>DISLIPIDEMIA</b>	
Antecedentes de concentraciones alteradas de: Colesterol: _____ mg/dL Triglicéridos: _____ mg/dL HDL: _____ mg/dL LDL: _____ mg/dL	Tratamiento hipolipemiente: SI ___ NO ___ Especifique:
<b>CARDIOPATÍAS</b>	
¿Algún problema que le impida practicar ejercicio físico debido a una enfermedad cardiovascular (CVD) o coronaria? ¿Cuál? Operado del corazón: No ___ Si ___ Implante en el corazón No ___ Si ___ ¿Cuál? ¿Antecedentes familiares de enfermedad arterial coronaria (CAD) en < 60 años de primer grado? Si ___ No ___	
Dolor torácico o del pecho: Si ___ No ___ Falta de respiración/agitación del pecho: Si ___ No ___ Adormecimiento del brazo: Si ___ No ___ Presencia de vascular periférica: Si ___ No ___ Obstrucción arterial: Si ___ No ___	Semanalmente ( _____ veces/semana) Semanalmente ( _____ veces/semana) Semanalmente ( _____ veces/semana) Semanalmente ( _____ veces/semana) Semanalmente ( _____ veces/semana)
Aneurismas aórticos: Si ___ No ___ Coágulos sanguíneos venosos: Si ___ No ___ Varices: Si ___ No ___ Presencia de enfermedad microvascular: Si ___ No ___	
Prescripción (¿Qué toma actualmente?), Medicamento y cantidades exactas:	
<b>OTROS (PATOLOGÍAS O TRATAMIENTOS)</b>	
<b>Neuropatía autonómica:</b> Presión arterial: Si ___ No ___ Control de la temperatura: Si ___ No ___ Digestión: Si ___ No ___ Función de la vejiga: Si ___ No ___ Función sexual: Si ___ No ___	<b>Enfermedad renal en etapa-final:</b> Hemodiálisis: Si ___ No ___ Diálisis: Si ___ No ___ <b>Enfermedad pulmonar sintomática o diagnosticada:</b> Que incluyen enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, enfermedad: Si ___ No ___ Pulmonar intersticial o fibrosis quística: Si ___ No ___ Prescripción (¿Qué toma actualmente?): Medicamento y cantidades exactas:
<b>DEMENCIAS</b>	

¿Padece algún tipo demencia? SI___ NO___ ¿Cuál? _____ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ Edad diagnóstico: ___	Tratamiento(dosis)/ Observaciones:	Examen Mínimo del Estado Mental de Folstein:  Inventario de Depresión de Beck: Escala Atenas de Insomnio:
--	------------------------------------	--

### OFTALMOPATÍAS

¿Padece Retinopatía diabética? SI___ NO___ OD___ OI___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ ¿Ha recibido algún tipo de tratamiento? SI___ NO___ En caso de si, especifique: -Láser (Panfotocoagulación) OD___ OI___ -Inyección intravítrea OD___ Total___ OI___ Total___ -Vitrectomía OD___ OI___ -Otros: _____ Observaciones: Grado de RD: OD___ OI___	¿Padece la enfermedad de Glaucoma? SI___ NO___ OD___ OI___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ Tratamiento actual: OD:___ OI:___ ¿Le han realizado cirugía para glaucoma? SI___ NO___ ¿Conoce el tipo de cirugía realizada? SI___ NO___ En caso de si, especifique: -Trabeculectomía OD___ OI___ -Válvula de Ahmed OD___ OI___ -Iridotomías (láser en iris) OD___ OI___ - Otras: _____ Observaciones:	¿Padece Degeneración Macular Relacionada a la Edad? SI___ NO___ OD___ OI___ Fecha de diagnóstico: ___/___/___ ¿Ha recibido algún tipo de tratamiento? SI___ NO___ En caso de si, especifique: -Inyección intravítrea: OD___ Total___ OI___ Total___ -Suplementos vitamínicos orales: SI___ NO___ Tiempo de consumo de suplementos _____ - Otros: _____ Observaciones: Atrofia geográfica: OD___ OI___
---	---	---

### GINECO-OBSTÉTRICOS

Edad 1ra menstruación: Frecuencia de los ciclos: _____ Duración / ciclo: ___ días Irregularidades: SI___ NO___ Especifique _____ Última menstruación: ___/___/___ Climaterio: SI___ NO___ Edad: ___	#Embarazos: Edad: 1er ___ último ___ embarazo Aborto, óbito, malformaciones:
---	--

### ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES

	Padre	Abuelo Paterno	Abuela Paterna	Madre	Abuelo Materno	Abuela Materna	Hermano	Hermana	Otros
¿Vivo? (Si/No) /Edad (años)									
Causa muerte									
Diabetes (Si/No)									
Cardiopatía (Si/No)									
Nefropatía (Si/No)									
Dislipidemias (Si/No)									
Obesidad (Si/No)									
Glaucoma (Si/No)/ DMRE (Si/No)									
Otro problema oftalmológico									
Alzheimer (Si/No)									
Otra demencia/Enf. neurológica									

Otra patología									
----------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

### Anexo 3: Antropometría

Nombre: \_\_\_\_\_

<b>ANTROPOMETRÍA</b>			
Peso(kg):	% Grasa Corporal:	Edad Metabólica:	% Grasa Tronco:
Talla(cm):	% Agua corporal:	Nivel grasa visceral:	Masa Muscular Tronco:
Cintura(cm):	Masa Muscular:	% Grasa Brazo Der:	% Grasa Pierna Der:
Cadera(cm):	Complexión física:	Masa Muscular Brazo Der:	Masa Muscular Pierna Der:
IMC(BMI):	Masa Ósea:	% Grasa Brazo Izq:	% Grasa Pierna Izq:
	BMR:	Masa Muscular Brazo Izq:	Masa Muscular Pierna Izq: