

Universidad Autónoma De Baja California

FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI



**Asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con la
dieta y parámetros bioquímicos en personas sanas.**

**Tesis que presenta para obtener el grado de
Doctor en Ciencias de la Salud**

Josefina Ruiz Esparza Cisneros

Director de Tesis: Dr. Octavio Manuel Robinson Navarro

Co-Director de Tesis: Dra. Isabel Ortega Vélez.

Asesor: Dr. Raúl Díaz Molina.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

CARTA DE DICTAMEN DE LA EVALUACION DEL DOCUMENTO DE TESIS
PARA SUSTENTAR EL EXAMEN DE GRADO

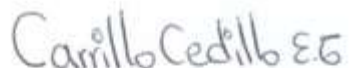
Mexicali, B.C. a , 31 de Mayo de 2013.

Loa abajo firmantes, miembros del Jurado Dictaminador del documento escrito denominado: ASOCIACION DE LA PROTEINA C-REACTIVA ULTRASENSIBLE CON LA DIETA Y PARAMETROS BIOQUIMICOS EN PERSONAS SANAS.

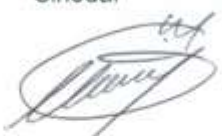
que para obtener el GRADO de DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD.
presenta: JOSEFINA RUIZ ESPARZA CISNEROS

Realizada la evaluacón resolvimos: APROBARLA


DR. OCTAVIO MANTEL ROBINSON NAVARRO
Presidente


DRA. EUGENIA GABRIELA CARRILLO CEDILLO
Sinodal


DR. RICARDO SANCHEZ RUBIO
Sinodal


DR. ULISES MACIAS CRUZ
Sinodal


DR. RAUL DIAZ MOLINA
Secretario

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

DRA. JULIA DOLORES ESTRADA GUZMÁN
DIRECTORA DE LA FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI, UABC
PRESENTE.-

En mi carácter de director de tesis de Josefina Ruiz Esparza Cisneros, alumna del programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud, me permito informar a usted que después de dar seguimiento a las observaciones que los sinodales realizaron, he revisado la versión final de su tesis y no tengo inconveniente alguno en que continúen los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Mexicali, Baja California, a 31 de mayo del 2013.
ATENTAMENTE



Dr. Octavio M. Robinson Navarro
Profesor-investigador del Programa de
Maestría y Doctorado en Ciencias de la Salud

C.c.p. M.C. Carmen Gorety Soria Rodriguez, Coordinadora de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Mexicali.

C.c.p. Josefina Ruiz Esparza Cisneros.

C.c.p. Archivo.



ÍNDICE

Índice de Tablas	ix
Índice de Figuras	x
Lista de abreviaturas	xi
RESUMEN	xiv
1.0 ANTECEDENTES	1
1.1 Antecedentes históricos	2
1.1.1 Proteína C-reactiva	2
1.1.2 Síntesis de la PCR.....	3
1.1.3 Proteína C-reactiva ultrasensible	4
1.2 Marco Teórico	5
1.2.1 Relación de la PCR-us con la salud y parámetros bioquímicos	5
1.2.2 Dieta	6
1.2.3 Nutrientes y PCR-us	6
1.2.4 Grupos de alimentos	8
1.2.5 Patrones dietarios.....	8
2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
3.0 JUSTIFICACIÓN	12
4.0 OBJETIVOS	14
4.1 Objetivo general	15
4.1.1 Objetivos específicos	15
5.0 HIPÓTESIS	16
6.0 METODOLOGÍA	18
6.1 Diseño	19
6.2 Criterios de inclusión	19
6.3 Criterios de exclusión	19
6.4 Población y muestra.....	19
6.5 Instrumentos y procedimientos.....	22
6.5.1 Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos	22
6.5.2 Valoración clínica.....	22
6.5.3 Valoración antropométrica	23
6.5.4 Parámetros bioquímicos	23
6.5.4.1 Cuantificación de PCR-us	24
6.6 Definición de variables	25
7.0 PLAN DE ANÁLISIS.....	26
8.0 ASPECTOS ÉTICOS, NORMATIVOS Y DE SEGURIDAD.....	28
9.0 RESULTADOS	29

9.1 Descripción de los participantes	30
9.2 Dieta	31
9.2.1 Grupos de alimentos	31
9.2.2 Nutrientes.....	35
9.4 Parámetros bioquímicos.....	43
10.0 DISCUSIÓN	45
11.0 CONCLUSIONES.....	49
12.0 BIBLIOGRAFÍA	51
Bibliografía.....	52
Anexo 1. Carta de invitación a participar en la investigación.....	61
Anexo 2. Resumen de la investigación.....	62
Anexo 3. Carta de consentimiento.....	64
Anexo 4. Carta informativa.....	64
Anexo 5. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.....	65
Anexo 6. Valoración clínica.....	69
Anexo 7. Procedimientos de antropometría.....	70
Anexo 8. Cuantificación de hemoglobina glucosilada HbA1c.....	75
Anexo 9. Perfiles de laboratorio: Química seca.....	78
Anexo 10. Cuantificación de la PCR-us. EIA.....	80

Índice de Tablas

Tabla 1 Estratificación de la muestra.	21
Tabla 2. Definición de variables.	25
Tabla 3. Descripción de las características demográficas de los participantes.	31
Tabla 4. Ingesta de grupos de alimentos por género.	32
Tabla 5. Niveles de Proteína C-reactiva ultrasensible en función de la ingestión diaria de los distintos grupos de alimentos por género.	33
Tabla 6. Relación de la PCR-us con los grupos de alimentos.	34
Tabla 7. Asociación del consumo de grupos de alimentos y el riesgo de elevar la concentración de proteína C- reactiva ultrasensible.	35
Tabla 8. Características del patrón alimentario de la población estudiada por género.	36
Tabla 9. Correlación de la PCR-us con los nutrientes del patrón de consumo alimentario.	38
Tabla 10. Resultados del análisis de regresión logística para los nutrientes de todos los participantes.	40
Tabla 11. Vitaminas y minerales estimados del Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos por género.	41
Tabla 12. Correlación de la PCR-us con las vitaminas y minerales del patrón de consumo alimentario.	42
Tabla 13. Parámetros bioquímicos de los participantes.	43
Tabla 14. Coeficientes de correlación de los parámetros bioquímicos.	43

Índice de Figuras.

Figura. 1. Proteína C-reactiva.	2
Figura 2. Principales marcadores y moléculas involucradas en el proceso de inflamación.	4
Figura 3. Relación de la proteína C-reactiva con parámetros clínicos e IMC.	6
Figura 4. Diagrama de flujo para las pruebas bioquímicas.	24
Figura 5. Distribución del IMC, por género	30
Figura 6. Distribución de nutrientes de todos los participantes.	37
Figura 7. Análisis de regresión lineal de la PCR-us con el % de proteínas, el % de AGS y fibra total.	39
Figura 8. Análisis de regresión de la PCR-us con la Vitamina A.	42
Figura 9. Análisis de regresión lineal de la PCR-us con la concentración de HDL-C y HbA1c.	44

Lista de abreviaturas.

AGM = Ácidos grasos monoinsaturados.

AGS = Ácidos grasos saturados.

AGS = Ácidos grasos saturados.

AGT = Ácidos grasos totales.

AGt = Ácidos grasos trans.

AHA = Asociación Americana del Corazón.

BIA = Análisis de impedancia bioeléctrica.

cdita = Cucharadita.

CFCA = Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

CG= Carga glucémica.

CT = Colesterol total.

dL = Decilitros.

DM2 = Diabetes mellitus tipo 2.

ECNT = Enfermedades crónicas no transmisibles.

ECV = Enfermedades cardiovasculares.

EDTA = Etilen diamino tetra acetato.

EIA = Ensayo inmunoenzimométrico

ENSA 2006 = Encuesta Nacional de Salud y Alimentación del 2006.

FDA = Departamento de administración de bebidas y alimentos.

H = Hombres.

HbA1c = Hemoglobina glucosilada A1c.

HDL-C = Lipoproteínas de alta densidad colesterol.

IC = Intervalo de confianza.

ICAM-1 = Moléculas de adhesión intracelular-1.

IG = Índice glucémico.

IL-1 = Interleucina 1.

IL1- β = Interleucina 1-beta.

IMC = Índice de masa corporal.

IMSS = Instituto Mexicano del Seguro Social.

ISSSTE = Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.

kcal = Kilocalorías.

kJ = Kilojoules.

L = Litro.

LDL-C = Lipoproteínas de baja densidad colesterol.

LDL-ox = LDL oxidada.

M = Mujeres.

MCP-1 = Proteína quimiotáctica para monocitos-1.

μ g = Microgramos.

mg = Miligramos.

mg/L = Miligramos por litro.

mL = Mililitros.

M-SCF = Factor estimulante de colonias de monocitos.

NF-kB = Factor nuclear kappa B.

OMS = Organización Mundial de la Salud.

oz = Onza.

PCR = Proteína C-reactiva.

PCR-us = Proteína C-reactiva ultrasensible.

PDGF = Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

r = Coeficiente de correlación.

RI = Rango intercuartílico.

RM = Razón de momios.

SM = Síndrome metabólico.

SSA = Secretaría de Salud.

TAD = Tensión arterial diastólica.

TAS = Tensión arterial sistólica.

TG = Triglicéridos.

TNF α = Factor de necrosis tumoral alfa.

VCAM-1 = Moléculas de adhesión vascular-1.

RESUMEN

La proteína C-reactiva ultrasensible es un biomarcador importante en procesos inflamatorios. Su identificación como respuesta a los patrones dietarios y parámetros bioquímicos puede contribuir a la detección oportuna del riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles en etapas tempranas.

Objetivo. Asociar la concentración de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y algunos parámetros bioquímicos, en una muestra de personas consideradas sanas.

Materiales y métodos. A una muestra de profesores universitarios sanos se les realizó una valoración antropométrica, clínica y bioquímica (glucosa, hemoglobina glucosilada, colesterol total, colesterol unido a la proteína de alta densidad, colesterol unido a la proteína de baja densidad y triglicéridos), además se les cuantificó la proteína C-reactiva ultrasensible con un ensayo inmunoenzimométrico. Adicionalmente contestaron un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, del cual se estimaron las raciones de grupos de alimentos y nutrientes con el programa ESHA.

Resultados. La edad promedio de los participantes fue de 49.75 ± 10.05 años y la mediana de la concentración de PCR-us de 1.66 (0.97, 3.52) mg/L. El mayor consumo de frutas ($\beta = -0.016$, $P = 0.025$), fibra ($r = -0.221$, $P = 0.058$), ácidos grasos poliinsaturados ($r = -0.221$, $P = 0.058$), vitamina A ($r = -0.209$, $P = 0.080$) y lipoproteínas de alta densidad colesterol ($r = -0.253$, $P = 0.035$) se asociaron con menor concentración de PCR-us. Por el contrario, la ingesta elevada de proteínas ($r = 0.414$, $P = 0.002$), ácidos grasos saturados ($r = 0.260$, $P = 0.039$), ácidos grasos trans ($r = 0.235$, $P = 0.029$) y triglicéridos ($r = 0.236$, $P = 0.044$) se asociaron con una mayor concentración de PCR-us.

Conclusiones. Los datos sugieren que una dieta que incluye cereales, frutas, vegetales, fibra y vitamina A inducen a una concentración sérica baja de PCR-us. De igual forma se observó dicha asociación con el HDL-C. Mientras que una dieta rica en proteínas, ácidos grasos saturados y trans se asocia directamente con niveles elevados de PCR-us. Lo anterior nos permite explicar la asociación directa entre los niveles séricos de la PCR-us cuando se contrastó con la HbA1c y TG.

1.0 ANTECEDENTES.

1.1 Antecedentes históricos.

1.1.1 Proteína C-reactiva.

La proteína C-reactiva (PCR) es un biomarcador que ha generado interés en los últimos años. Tradicionalmente se ha utilizado su medición en suero o plasma como reactante de fase aguda para el diagnóstico y seguimiento de procesos inflamatorios¹.

La PCR pertenece a una familia de proteínas pentaméricas dependientes de calcio, y está compuesta por cinco subunidades polipeptídicas idénticas asociadas de manera no covalente en una configuración anular con simetría cíclica, Figura 1². Sin embargo, hay grandes variaciones en la organización de las subunidades entre los mamíferos, específicamente a nivel de secuencia de aminoácidos de cada una de ellas, por lo que se deben extremar precauciones al extrapolar al humano los datos obtenidos en modelos animales².

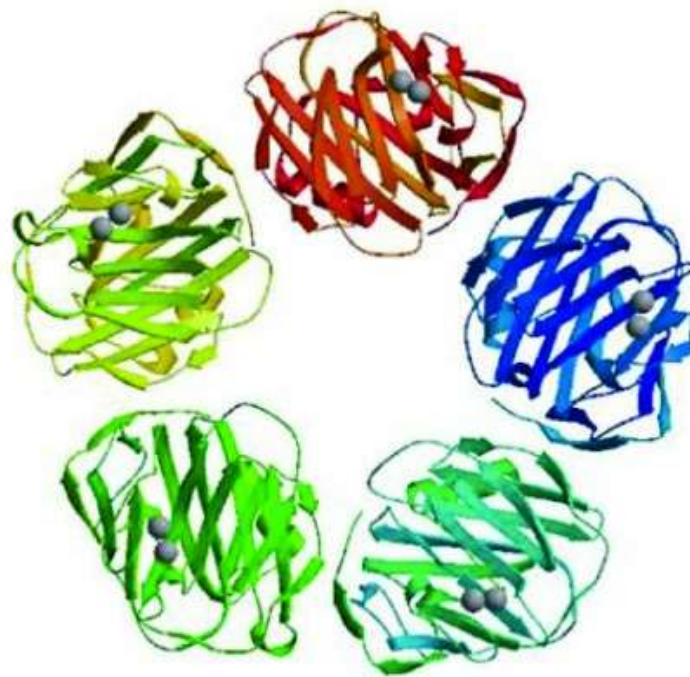


Figura 1. Proteína C-reactiva²

La PCR fue descrita en 1839 dentro del grupo de las betaglobulinas y es sintetizada en el hígado. La síntesis *de novo* de la PCR principia a las 6 horas después de un estímulo inflamatorio y alcanza su máximo entre las 24 y 72 h, cuando el estímulo desaparece, la concentración disminuye rápidamente. Su vida media es de 19 h, su concentración plasmática

se considera constante en condiciones de salud, de tal forma, que su concentración refleja fácilmente algún estímulo que aumente su concentración. Una vez finalizado el estímulo la PCR tiende a regresar a sus valores normales después de 7 días².

1.1.2 Síntesis de la PCR.

El endotelio vascular es el recubrimiento interior de los vasos sanguíneos, una de sus funciones es la mediación de la inflamación^{3, 4}. La disfunción endotelial ocurre cuando diversos factores modifican su función predisponiendo a la inflamación, la vasoconstricción y al incremento de la permeabilidad vascular⁵. El aumento de colesterol y lipoproteínas de baja densidad –oxidada (LDL-oxidada) favorecen su acumulación en el endotelio modificando su permeabilidad⁶, como se muestra en la Figura 2. Así inicia una cascada de reacciones inflamatorias con la producción de moléculas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), la selectina-E y la selectina-P, moléculas de adhesión vascular (VCAM-1), moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1), proteína quimiotáctica para monocitos (MCP-1), factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF) y factor nuclear kappa B (NF- κ B). Por otro lado, los monocitos que atraviesan el endotelio se convierten en macrófagos y la producción del NF- κ B y M-CSF a su vez induce la producción de la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF α), los cuales contribuyen al proceso de inflamación. Bajo estas circunstancias se favorece la síntesis simultánea de la PCR³.

Los marcadores de inflamación como el TNF α e interleucina 1 beta (IL1- β), son de respuesta inespecífica, por lo que se consideró estudiar proteínas relacionadas específicamente con este proceso como la PCR³. Tradicionalmente, los niveles de la PCR se usan en la evaluación de procesos inflamatorios crónicos e infecciones agudas². Sin embargo, cuando no hay manifestaciones clínicas de alguna enfermedad, la concentración de PCR es relativamente baja por ello la necesidad de utilizar ensayos de alta sensibilidad.

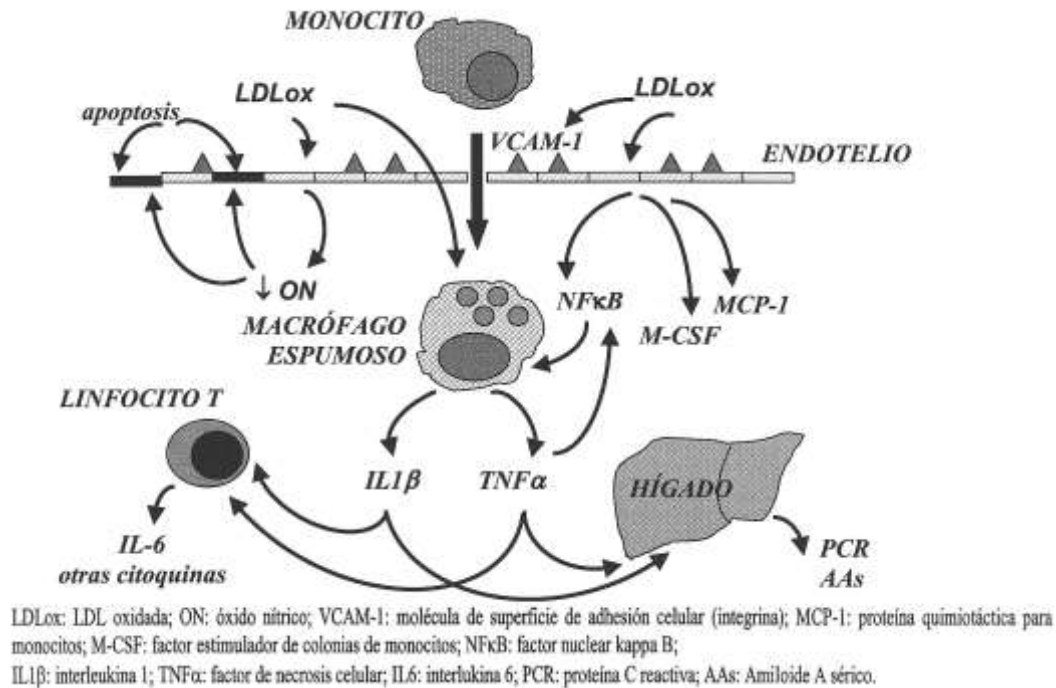


Figura 2. Principales marcadores y moléculas involucradas en el proceso de inflamación³.

1.1.3 Proteína C-reactiva ultrasensible.

Los nuevos avances tecnológicos permiten la detección de concentraciones de esta proteína, en cifras tan bajas como 0.001 mg/L, por lo que se denomina proteína C-reactiva ultrasensible (PCR-us) o por sus siglas en inglés hs-CRP (high sensitivity C-reactive protein). Uno de los primeros métodos para su cuantificación fue el ensayo inmunoenzimométrico (EIA) desarrollado para la PCR-us^{7,8}.

Otro método se basa en el inmunoanálisis automatizado con el nefelómetro Dade-Behring, implementado en Alemania en 1996 y utilizado en Europa y otros países⁸. La concentración de la PCR-us en condiciones normales debe ser menor a 1.0 mg/L, de acuerdo con el Departamento de Administración de bebidas y alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) y otras instituciones⁹. Actualmente se conocen concentraciones promedio de PCR-us que tiene la población humana y dicho promedio varía de acuerdo con el origen étnico. Los Asiáticos tienen una media de 0.97 mg/L, Estadounidense de 2.26 mg/L y en población Hispana 2.77 mg/L¹⁰.

1.2 Marco Teórico.

1.2.1 Relación de la PCR-us con la salud y parámetros bioquímicos.

Una de las cualidades de esta proteína es que su concentración en suero se mantiene estable por varios años², lo cual favorece su asociación con el desarrollo incipiente de procesos inflamatorios subclínicos y asintomáticos, que a su vez se relacionan con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) tales como enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y obesidad principalmente¹¹. Cabe mencionar, que dichos padecimientos ocupan el cuarto lugar dentro de los principales padecimientos de muertes a nivel mundial y nacional, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹²⁻¹⁴.

Las ECNT tienen una estrecha relación con parámetros bioquímicos como la glucosa, hemoglobina glucosilada (HbA1c) y perfil lipídico, entre otros, para su diagnóstico y control metabólico¹⁵.

En el caso de personas con DM2, se observó una relación positiva entre los niveles de HbA1c¹⁶ y glucosa¹⁷, con la concentración de PCR-us. En un estudio realizado en personas sin diabetes, también se encontró dicha asociación¹⁸.

En general, la PCR-us parece tener asociación positiva con el colesterol total (CT) y triglicéridos (TG) pero negativa con la concentración de lipoproteínas de alta densidad colesterol (HDL-C)^{3, 19} (Figura 3). En estudios epidemiológicos a gran escala (10,000-20,000 sujetos) encontraron una asociación positiva entre los niveles de PCR-us con la relación de CT: HDL-C y el riesgo relativo de padecer enfermedades cardiovasculares en adultos^{20, 21}. Posteriormente, el mismo grupo de investigación reportó un alto riesgo de padecer ECV con una concentración de PCR-us mayor a 3.0 mg/L, aunadas a concentraciones entre 130-160 mg/dL de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), por lo que sugirieron que la determinación de la PCR-us podría ser un indicador de riesgo relativo de ECV, respecto a valores independientes del perfil lipídico^{22,23}.

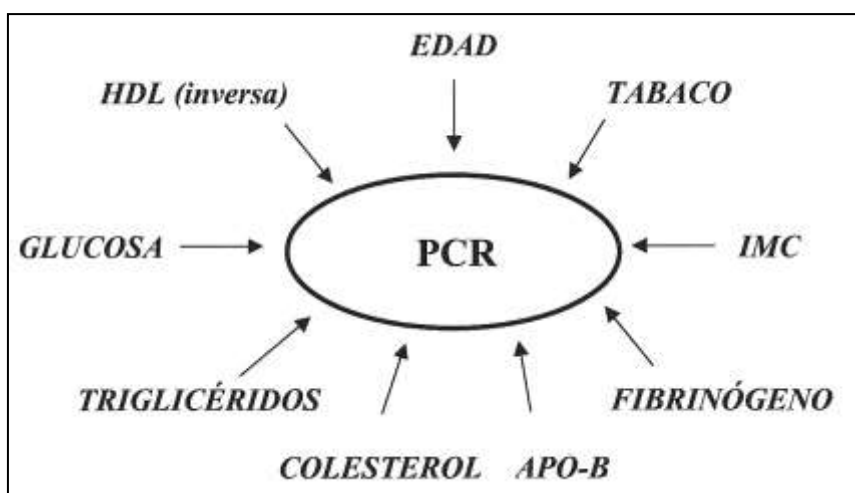


Figura 3. Relación de la proteína C-reactiva con parámetros clínicos e IMC³.

La concentración de PCR-us también ha sido relacionada con el estilo de vida, la dieta y el peso corporal, ya que estos a su vez definen en gran medida la variabilidad de la química sanguínea. El incremento del índice de masa corporal (IMC) a valores correspondientes a obesidad, el hábito del tabaquismo y la edad avanzada se vincularon con mayor concentración de la PCR-us^{3, 24}.

1.2.2 Dieta.

La dieta es el conjunto de alimentos que regularmente se ingieren y están constituidos por nutrientes como los carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y minerales, que a su vez se clasifican por su composición en los siguientes grupos: cereales, frutas, vegetales, lácteos, carne y frijoles, y aceites²⁵. Las personas los eligen para su consumo diario de acuerdo con la disponibilidad, poder adquisitivo y más frecuentemente por hábitos y costumbres²⁶.

1.2.3 Nutrientes y PCR-us.

Los carbohidratos son la base de la alimentación, es el nutriente que contribuye con mayor aporte de energía, y forma parte de varios grupos de alimentos tales como cereales, frutas, vegetales y, en menor cantidad, los lácteos. Una clasificación de los carbohidratos los divide en simples (los monosacáridos y disacáridos) y complejos (los polisacáridos). Una segunda clasificación de estos carbohidratos es con base en la velocidad a la que se transforman a glucosa, considerándose como carbohidratos de índice glucémico (IG) alto, medio y bajo²⁵.

Para calcular el IG, de los alimentos se utiliza a la glucosa como referencia, considerando como 100 el área bajo la curva resultante en una prueba de tolerancia a la glucosa. Los alimentos que presentan una respuesta glucémica mayor de 70, se consideran de IG alto, los comprendidos entre 56 y 69 son IG moderados y los menores a 55 corresponden a IG bajo²⁷.

La carga glucémica (CG) es una forma de considerar la cantidad de carbohidratos consumidos, además del valor del IG. Este valor se obtiene multiplicando el IG por la porción de carbohidratos digerible entre 100. La CG puede ser alta (mayor de 20), media (de 11 a 19) y baja (menor de 10)²⁸. El consumo de alimentos con CG alta se relaciona con el riesgo de desarrollar DM2, ya que bajo estas condiciones los niveles de glucosa sanguínea aumentan rápidamente y la demanda de insulina es mayor que si los carbohidratos de la dieta hubieran sido de menor carga glucémica²⁹.

La asociación de la PCR-us con CG se estudió principalmente en personas que padecían DM2, síndrome metabólico (SM) o ECV, evidenciando una asociación directa^{29, 30}. Por otro lado, en el seguimiento a una población de enfermeras, durante varios años se encontró una asociación positiva y significativa de la CG y la PCR-us, con el riesgo de padecer ECV, principalmente en mujeres con obesidad y propensas a resistencia a la insulina³¹. Otros estudios reportaron datos similares en una población de 18,137 hombres mayores de 45 años³². Cuando en la dieta predominaron los alimentos de CG baja se encontró una asociación inversa con la concentración de PCR-us³³.

La fibra es un componente de la dieta que también se asoció inversamente con la concentración de PCR-us en personas adultas³⁴, o bien después de una intervención, en la que aumentaron el consumo a 16-25 g de fibra por día, durante un período mínimo de 24 meses^{35, 36,37}. En otra investigación, un grupo de personas consumió un suplemento de 30g diarios de fibra observando resultados similares³⁸.

Por otro lado, se encontró asociación directa positiva entre la concentración de la PCR-us con los ácidos grasos saturados (AGS)^{39,40}, ácidos grasos trans (AGt) y el colesterol⁴¹. Asimismo se reportó una asociación inversa de la PCR-us con los ácidos grasos monoinsaturados (AGM)⁴².

En otros trabajos también se reportó una asociación inversa entre la concentración de la PCR-us, con algunas vitaminas como la C y la E, además de otros compuestos como α y β -

caroteno, luteína y zeaxantina, todos ellos encontrados principalmente en frutas y vegetales^{11, 35}.

En relación con los minerales, el alto consumo de magnesio se asoció con menor concentración de PCR-us⁴³ y éste se encuentra en alimentos ricos en fibra⁴⁴.

1.2.4 Grupos de alimentos.

En estudios previos reportaron que el consumo de cantidades suficientes de cereales elaborados de granos enteros^{45, 46}, frutas y vegetales^{47, 48} los cuales son ricos en fibra y de moderado o bajo IG, se relacionaron con bajas concentraciones de PCR-us⁴⁵⁻⁴⁸. Estas evidencias se presentaron en personas con síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular⁴⁸, aunque existen pocos estudios en personas saludables³⁴.

Los alimentos con alto contenido de aceites y grasas tales como papas, alimentos fritos, galletas y pasteles, se asociaron con mayor concentración de PCR-us. Lo anterior se explicó en función del contenido de AGS y AGt principalmente^{40, 41}. En el grupo de lácteos se reportó una asociación inversamente significativa entre el consumo mínimo de dos raciones de leche o derivados con la PCR-us, sin embargo, es un dato aislado que requiere mayor investigación⁴⁹.

1.2.5 Patrones dietarios.

Otras investigaciones se orientaron hacia el patrón de consumo de alimentos de acuerdo con el estilo que prevalece en la región. En el oeste de Estados Unidos se estudió el consumo de alimentos en un grupo de personas cuya dieta estaba basada en carne procesada, papas fritas, bebidas endulzadas y postres, encontrando una asociación directa positiva con la concentración de PCR-us (2.5 ± 0.3 mg/L). Mientras que otro grupo de la misma población, cuya dieta consistió de frutas, vegetales, pescado, cereales elaborados con granos enteros y pocos alimentos endulzados mostró una concentración menor de 1.6 ± 0.3 mg/L⁵⁰.

En otros estudios se encontró que un grupo de personas con estilo dietario vegetariano, presentaron valores promedio de PCR-us de 0.72 mg/L⁵¹, los cuales correspondieron a valores normales y de bajo riesgo de acuerdo con la FDA y a la clasificación de la Asociación Americana del Corazón (AHA)⁹. Uno de los alimentos principales de esta dieta es la soya y

sus derivados, los cuales están relacionados con menor concentración de marcadores de inflamación, sin embargo los resultados no fueron concluyentes⁵².

Otro patrón estudiado fue la dieta mediterránea, tradicionalmente asociada con el bajo riesgo de enfermedades cardiovasculares. Esta dieta enfatiza el consumo de aceite de oliva, nueces, cereales y frutas. Se observó que las personas que acostumbraron esta dieta mostraron menor concentración de PCR-us^{53, 54}.

2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Diversos estudios demostraron que el proceso inflamatorio se relaciona con enfermedades como la isquemia miocárdica aguda y la enfermedad coronaria crónica, que cursan con concentraciones elevadas de PCR-us. Esta prueba podría ser útil para las primeras manifestaciones subclínicas en los procesos de inflamación⁵⁵.

Considerando que la PCR-us se encuentra en cantidades menores en estadios tempranos de los procesos inflamatorios, se desarrollaron métodos ultrasensibles para su cuantificación, los cuales aunados a otras pruebas de diagnóstico clínico se proponen como un diagnóstico preventivo para los padecimientos antes mencionados.

El propósito de realizar este proyecto fue investigar los niveles de la PCR-us en personas aparentemente sanas y la asociación de ésta con la dieta y otros parámetros bioquímicos como el colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad colesterol, lipoproteínas de baja densidad colesterol, glucosa y hemoglobina glucosilada.

Por lo que surgió la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué asociación existe entre la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y algunos parámetros bioquímicos (colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad colesterol, lipoproteínas de baja densidad colesterol, glucosa y hemoglobina glucosilada) en personas sanas?

3.0 JUSTIFICACIÓN

La PCR-us ultrasensible es una proteína inespecífica de fase aguda en procesos inflamatorios como infecciones agudas, artritis y otras^{11, 56}.

Las ECV y la DM2 ocupan un lugar importante a nivel mundial, de acuerdo con reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁵⁷, también cursan con un proceso inflamatorio.

La prevalencia de factores de riesgo cardiovascular y ECNT, así como la mortalidad, suelen ser más elevados en los grupos socioeconómicos más bajos, en cualquier país. Al menos un 80% de las muertes prematuras por cardiopatía y accidentes vasculares cerebrales podrían evitarse con una dieta saludable, actividad física regular y abandono del consumo de tabaco⁵⁷.

La OMS a través del Departamento de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud, cuenta con estrategias para frenar e invertir la tendencia al aumento de los factores de riesgo de dichas enfermedades, y prevenir muertes prematuras y discapacidades, sin embargo, los esfuerzos no son suficientes para reducir esta tendencia⁵⁷. En los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Alimentación de 2006 (ENSA, 2006)¹³⁻¹⁴, en el apartado correspondiente a Baja California se enfatiza el mayor impulso a los programas de prevención de las instituciones como el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) y la Secretaría de Salud (SSA) a través del seguro popular. Considerando lo anterior, en este estudio el propósito fue cuantificar la concentración de la PCR-us en una población aparentemente sana, debido a que las enfermedades crónico degenerativas de mayor prevalencia en esta región, cuando son asintomáticos inician con un proceso de inflamación subclínico que se podría evidenciar cuantificando la PCR-us.

4.0 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Asociar la concentración de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y algunos parámetros bioquímicos, en personas aparentemente sanas.

4.1.1 Objetivos específicos.

- a. Relacionar los niveles de la PCR-us con la dieta de los profesores universitarios.
- b. Evaluar la asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con las siguientes pruebas bioquímicas: colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, glucosa y hemoglobina glucosilada.

5.0 HIPÓTESIS.

Existe asociación entre la concentración de proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y otros marcadores bioquímicos como el colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, glucosa y hemoglobina glucosilada en personas aparentemente sanas.

6.0 METODOLOGÍA.

6.1 Diseño.

El diseño fue de tipo observacional, descriptivo, transversal, analítico y comparativo.

6.2 Criterios de inclusión.

Ser profesor de tiempo completo de la UABC sin diagnóstico clínico de enfermedad aparente.

6.3 Criterios de exclusión.

Participantes con concentraciones de PCR-us mayores de 10 mg/L.

6.4 Población y muestra.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se consideró una población de 457 profesores de tiempo completo de 17 unidades académicas correspondientes al Campus de Mexicali de la UABC y una frecuencia en población mexicana de 31.2% con niveles de mayores a 1.0 mg/L⁵⁸. Con la fórmula de proporciones⁵⁹ se obtuvo una muestra de 71 profesores. La estratificación por facultad o instituto del campus Mexicali se presenta en la Tabla 1.

Procedimiento para el cálculo del tamaño de la muestra.

Para estimar el promedio (μ):

$$\mu = np$$

Estimación de la desviación estándar (σ):

$$\sigma = \sqrt{npq}$$

Donde:

p= probabilidad de aceptación o de acierto

q= probabilidad de rechazo o fracaso = 1-p

n=población.

Para los datos de 497 maestros y la proporción de 31.2%, se tiene que:

$$\mu = 457(0.312) = 155$$

$$\sigma = \sqrt{(457)(0.312)(1-0.312)} = 9.90$$

Para obtener un intervalo de confianza con d unidades se tiene:

$$d = Z_{\alpha/2} (\sigma) / \sqrt{n}$$

Para un 95% de confianza $Z_{\alpha/2} = 1.96$

$$d = 1.96 (10.3) / \sqrt{457} = 0.908$$

Si se quiere estimar el tamaño de la muestra n , es necesario disminuir el valor de d en una décima parte. Si N es grande en comparación con n (es decir, $n/N \leq 0.05$)

$$n = (Z_{\alpha/2})^2 p q / d^2$$

Por lo tanto para calcular $n = (1.96)^2(0.312) (0.688) / (0.1)^2 = 82.5 \sim \mathbf{83}$

Si la corrección para población finita no puede descartarse, la fórmula para cálculo de n es:

$$n = N (Z_{\alpha/2})^2 p q / [d^2 (N-1) + (Z_{\alpha/2})^2 p q]$$

Sustituyendo valores tenemos:

$$n = (457) (1.96)^2 (0.312)(0.688) / [(0.1)^2(457-1) + (1.96)^2 (0.312)(0.688)] = 70.81 \sim \mathbf{71}$$

Tabla 1. Estratificación de la muestra

Unidad Académica	Profesores de T/C	Muestra estratificada
1. Facultad de Arquitectura.	29	8
2. Instituto de Ciencias Agrícolas.	35	9
3. Facultad de Ciencias Humanas.	44	11
4. Facultad de Ciencias Administrativas.	43	11
5. Facultad de Derecho.	21	5
6. Escuela de Deportes.	27	8
7. Escuela de Artes.	3	1
8. Facultad de Medicina Mexicali.	24	6
9. Facultad de Odontología.	21	5
10. Facultad de Pedagogía.	9	2
11. Facultad de Enfermería.	12	3
12. Facultad de Idiomas.	9	2
13. Facultad de Ciencias Políticas.	24	6
14. Facultad de Ingeniería.	72	19
15. Instituto de Investigación en Ciencias Veterinarias.	26	7
16. Instituto de Investigaciones Sociales.	20	5
17. Instituto de Ingeniería.	38	10

Después de haber aceptado, se estableció la fecha para acudir al Centro de Diagnóstico de la Facultad de Medicina Mexicali o bien al espacio de atención para la salud, que tienen algunas unidades académicas, en estos casos se acudió con el personal y equipo necesario para realizar los procedimientos.

A continuación se describe el trabajo de cada sesión.

Sesión 1. Presentación del protocolo, aclaración de dudas, firma de la carta de consentimiento (Anexos 1-4), se procedió a realizar la encuesta de frecuencia de consumo de alimentos.

Sesión 2. Aplicación de procedimientos para la obtención de datos.

6.5 Instrumentos y procedimientos.

A los participantes que cumplieron con los criterios establecidos, se les aplicó el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA), una valoración clínica, antropométrica y pruebas bioquímicas.

6.5.1 Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

La evaluación de la ingesta dietética permite una aproximación a la composición de la dieta, los hábitos alimentarios y el riesgo de una malnutrición. De los métodos que hay para la evaluación de la dieta se eligió el CFCA, el cual consistió en una lista de alimentos sobre la que se pregunta qué tan frecuentemente los consumen durante un periodo de tiempo determinado y en esta investigación se realizó por una semana⁶⁰. Asimismo, es un método rápido para obtener la ingesta usual y tiene la ventaja de que puede ser auto contestado⁶¹.

Se utilizó un CFCA semicuantitativo para población mexicana, validado, con el recordatorio de 24 horas, en un grupo de 134 personas y se encontraron coeficientes de correlación entre 0.38 y 0.54 para los nutrientes estimados en ambos cuestionarios⁶²⁻⁶⁴. Es importante que todas las encuestas sean aplicadas por una persona capacitada para evitar sesgos.

El cuestionario que aplicamos tiene un listado de 68 alimentos clasificados en grupos como: cereales, frutas, vegetales, carne (res, aves, pescado y mariscos) y frijoles, lácteos, aceites y grasas (Anexo 5). La frecuencia de consumo de alimentos se estimó por semana (nunca, uno, 2 a 4 ó 5 a 6 días de la semana) y cuantas veces por día (una, 2 a 4, 4 a 5, ó más de 6 al día). Se preguntó la cantidad o porción consumida para cada alimento, para lo cual se utilizaron modelos de plástico (NASCO) y fotografías de tamaño natural de las porciones establecidas en el cuestionario. La información se procesó con el programa "Food Processor SQL" versión 10.1.0 (ESHA Research, Salem, OR, USA), para la estimación de grupos de alimentos, energía, AGT, AGS, AGM, AGt, colesterol, carbohidratos, azúcar, fibra total, proteínas, CG, vitaminas y minerales.

6.5.2 Valoración clínica.

Esta evaluación la realizaron los médicos pasantes que realizan su servicio social en el Centro de Diagnóstico de la Facultad de Medicina Mexicali de la UABC, que consistió en la elaboración de una historia clínica (Anexo 6), cuantificación de la tensión arterial diastólica (TAD) y tensión arterial sistólica (TAS).

6.5.3 Valoración antropométrica.

Los indicadores utilizados para esta evaluación, fueron el peso, la talla, el sexo, la edad y la composición corporal. Las técnicas utilizadas para el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC) se tomaron del “Manual de antropometría y estandarización como técnicas de investigación” del Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán⁶⁵. Asimismo, el porcentaje de grasa corporal, se midió con el equipo de Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA) RNL System, modelo Quantum II (RNL Systems Inc, USA, Anexo 7). Este equipo generó un reporte que incluyó el IMC y el % grasa corporal del individuo, entre otros datos⁶⁵.

6.5.4 Parámetros bioquímicos.

Se colectaron 10 mL de sangre de la vena cubital media, de los cuales 2 mL se colocaron en un tubo con el anticoagulante EDTA (etilen diamino tetra acetato) y el resto en otro tubo de 16 x 100 mm, sin aditivo. Ambos tubos se colocaron en una gradilla y se identificaron con etiquetas donde se escribió el número de empleado del profesor, para posteriormente ser guardados en una hielera con paquetes de gel refrigerante, para su transporte al laboratorio. El material biológico desechable como las jeringas y torundas, se colocaron en los contenedores adecuados, de acuerdo con las normas de disposición de residuos biológicos y manual de procedimientos de la Facultad.

En el laboratorio, las muestras con anticoagulante se utilizaron para la determinación de la HbA1c (Anexo 8) y las muestras sin anticoagulante se centrifugaron a 3000 rpm, durante 15 min para obtener el suero, el cual se colocó en viales de plástico para su congelación a -18°C . En la Figura 4 se observa el diagrama de flujo del seguimiento de la muestra sanguínea para las pruebas bioquímicas. Una vez reunidas todas las muestras, se realizaron las cuantificaciones.

Para las determinaciones de glucosa y perfil lipídico (CT, TG y HDL-C), se utilizó un analizador Vitros DT60 (Johnson & Johnson Clinical Diagnostics Inc.) y la LDL-C se calculó con la fórmula de Friedewald⁶⁶ (Anexo 9). La cuantificación de HbA1c, se realizó por cromatografía de intercambio iónico (Eagle Brand reagents, USA).

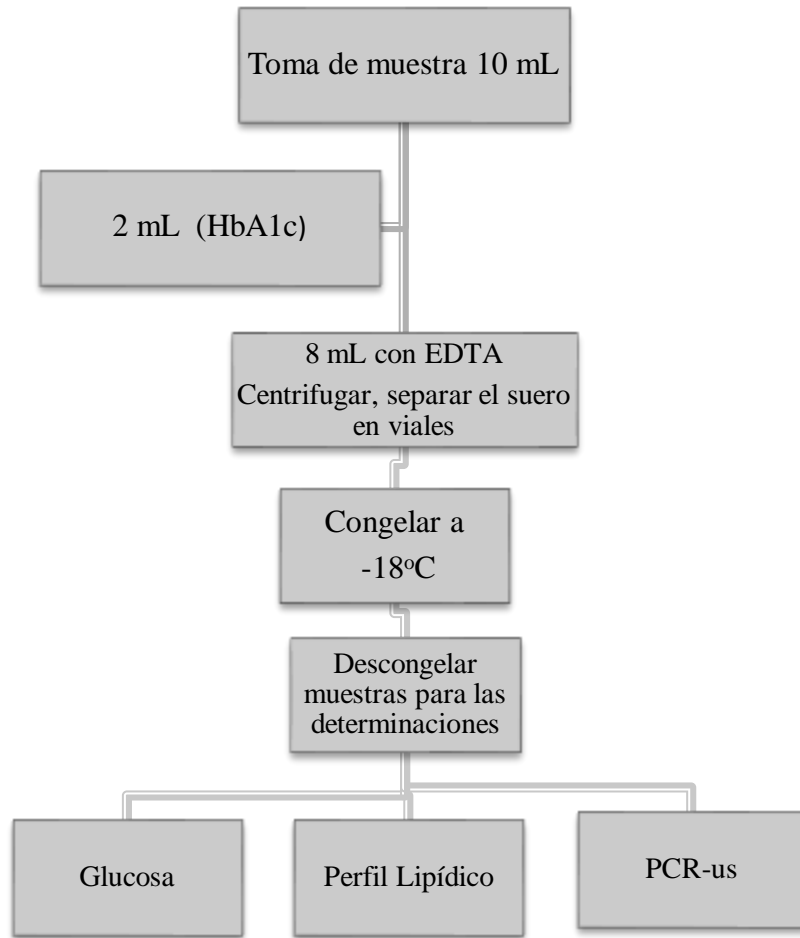


Figura 4. Diagrama de flujo para las pruebas bioquímicas.

6.5.4.1 Cuantificación de PCR-us.

La cuantificación de la PCR-us se realizó mediante un ensayo inmunoenzimométrico (Monobind, Inc., Lake Forest, CA, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Anexo 10). Los datos obtenidos se organizaron en dos grupos, de acuerdo con la concentración de PCR-us: el primero con las personas que presentaron concentraciones de PCR-us se menores a 1.0 mg/L, las cuales se consideran normales y el segundo con las que mostraron valores mayores a 1.0 y menores a 10.0 mg/L, que se consideran asociadas a algún proceso inflamatorio subclínico.

6.6 Definición de variables.

Tabla 2. Definición de variables.

Variable	Definición
Dependiente.	
PCR-us	Parámetro bioquímico. Determinación por el método EIA. Variable cuantitativa numérica continua.
Independientes.	
Dieta	Datos obtenidos mediante un cuestionario validado, el CFCA, del cual se obtienen las cantidades de alimentos consumidos en g y mL, en el caso de alimentos sólidos y líquidos respectivamente.
Grupos de alimentos	Tomados de los reportes del CFCA, obtenidos por el programa ESHA. Variables cuantitativas numéricas continuas.
Nutrientes	Tomados de los reportes del CFCA, obtenidos por el programa ESHA. Variables cuantitativas numéricas continuas.
Parámetros bioquímicos	Datos obtenidos de la muestra sanguínea mediante los procedimientos descritos en la metodología para glucosa, HbA1c, CT, TG, LDL-C y HDL-C. Variables cuantitativas numéricas continuas.

7.0 PLAN DE ANÁLISIS

Las variables que no mostraron una distribución normal de acuerdo con la prueba de Kolmogorov-Smirnov se expresaron como mediana y rangos intercuartílicos (RI), analizándose con la prueba U de Mann Whitney.

El grado de asociación de la PCR-us con los grupos de alimentos se midió a través de tres modelos de regresión lineal multivariados ajustados para la edad, IMC y porcentaje de grasa corporal. En el primero se consideró la concentración de la PCR-us transformada logarítmicamente y las raciones de los grupos de alimentos ajustadas a 1000 kcal. En el segundo se consideraron todas las variables del primer modelo, adicionadas del IMC y la edad. Finalmente en el tercero, además de lo anterior se incluyó el porcentaje de grasa corporal.

Para el modelo de regresión logística se realizó una transformación logarítmica de las concentraciones de la PCR-us, con el cual se calculó la razón de momios (RM), y el intervalo de confianza (IC) al 95%. El valor de la RM si es mayor de uno, indica que la asociación es positiva y representa el número de veces de que ocurra la condición estudiada. Por el contrario, un valor menor a uno, indica una asociación negativa, que se interpreta como la protección que el evento ocurra. Se consideró un valor de $P < 0.05$ para la significancia estadística. Todo el análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 17.0.

8.0 ASPECTOS ÉTICOS, NORMATIVOS Y DE SEGURIDAD.

Este protocolo se desarrolló en apego estricto a la declaración de Helsinki, para investigación en humanos. Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento informado.

9.0 RESULTADOS.

9.1 Descripción de los participantes.

La muestra total de participantes presentó una edad promedio de 49.75 ± 10.05 años e IMC con una mediana de 26.15; RI: 23.45, 29.11 kg/m^2 . La concentración de PCR-us fue una mediana de 3.87; RI: 2.33, 6.55 mg/L . Tres personas de esta muestra presentaron una concentración sérica de PCR-us superior a 10.0 mg/L , por lo que se excluyeron de la investigación. La muestra final fue de 72 participantes con PCR-us de 1.66; RI: 0.97, 3.52 mg/L . De ellos, el 25% presentaron concentraciones de PCR-us menores a 1 mg/L y el 75% entre uno y 10 mg/L .

En la Figura 5, se presentan los resultados de IMC en relación al género. Los hombres presentaron una mediana para el IMC de 28.0; RI: 22.18, 32.00 kg/m^2 , mientras que en las mujeres fue de 25.73 kg/m^2 ; RI: 25.90, 29.19 kg/m^2 .

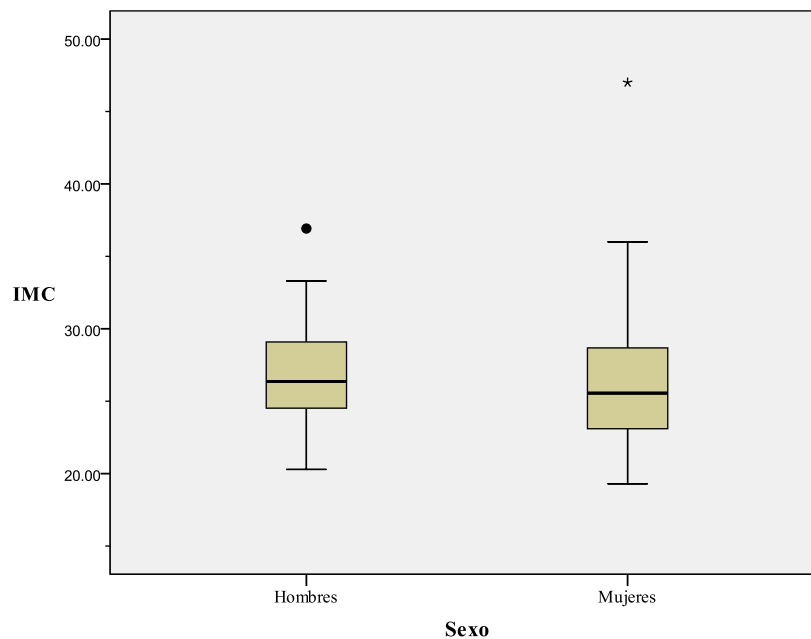


Figura 5. Distribución del IMC por género.

Las características generales de los participantes por género se presentan en la Tabla 3 donde se observa una mediana de 1.68; RI: 0.61, 3.18 mg/L de PCR-us, en los hombres. Las mujeres presentaron una concentración de PCR-us de 1.67; RI: 1.03, 3.11 mg/L . Los datos de la mediana de la tensión arterial sistólica (TAS) fue de 120; RI: 115, 124 mmHg y de 120; RI: 110, 130 mmHg para hombres y mujeres respectivamente. La mediana de la tensión

arterial diastólica fue de 80; RI: 74, 90 y de 68; RI: 62, 80 mmHg en hombres y mujeres respectivamente.

Tabla 3 Descripción de las características generales de los participantes.

	Hombres	Mujeres	P
	Mediana(RI)	Mediana(RI)	
PCR-us (mg/L)	1.68 (0.61, 3.18)	1.67 (1.03, 3.11)	0.725
Peso (kg)*	81.72±14.15	71.13 ± 13.51	0.001
Edad (años)*	47.08 ±11.46	47.79 ±9.83	0.530
TAS (mmHg)	120.00 (115.00, 124.00)	120.00 (110, 130)	0.514
TAD (mmHg)	80.00 (74.00, 90.00)	68.00 (62.00, 80.00)	0.017
Altura (m)	1.73 (1.69, 1.77)	1.61 (1.57, 1.65)	0.001
CC (cm)	97.00 (92, 105)	85.00 (80.75, 97.00)	0.001
IMC (kg/m ²)	28.01 (25.90, 29.19)	25.73 (22.18, 32)	0.106
% de grasa corporal	28.80 (24.00, 32.00)	31.30 (26.80, 37.00)	0.001
n= 72	46.9%	53.10%	

*media ± desviación estándar; diferencia significativa P<0.05 ; RI Rango Intercuartílico; IMC, Índice de masa corporal;
TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.
CC: Circunferencia de cintura.

9.2 Dieta.

9.2.1 Grupos de alimentos.

En la Tabla 4 se observa que el consumo de grupos de alimentos entre hombres y mujeres fue diferente (P<0.05). Los hombres consumen más cereales, frutas, carne y frijoles que las mujeres, contrariamente se observó con respecto al consumo de vegetales y grasas y aceites.

Tabla 4. Ingesta de grupos de alimentos por género.

	Hombres	Mujeres	P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Cereales (oz)	5.51(3.55,7.69)	5.23 (3.05,8.34)	0.036
Frutas (taza)	0.92(0.43,1.16)	0.60 (0.36,0.94)	0.001
Vegetales (taza)	0.84(0.45,1.27)	1.11(0.62, 1.56)	0.001
Lácteos (taza)	1.20(0.66,1.86)	1.36(0.75, 2.15)	0.008
Carne ^o y frijoles (oz)	5.51(3.77,8.28)	5.15 (4.03, 7.46)	0.003
Aceites y grasas (cdita)	6.63(4.79,10.57)	8.38 (5.83, 12.8)	0.028

Cereales: una ración de una onza (28.35 g), de pan, tortilla, cereales listos para servirse, ½ taza (120 mL) cereales cocidos, arroz o pasta.

Frutas: una pieza mediana, ½ taza de fruta cortada, cocida o enlatada.

Vegetales: una taza (240 mL) de hojas verdes, ½ taza (120 mL) de otras cortadas o cocinadas.

^o Carne de res, aves, pescados y mariscos; cdita: cucharadita, 5 mL; diferencia significativa P<0.05

En la Tabla 5 se muestran el efecto del consumo de grupos de alimentos sobre la concentración de la PCR-us. En los hombres, la ingesta de frutas, vegetales, lácteos, carne y frijoles no influyó sobre la PCR-us de manera estadísticamente significativa ($P>0.05$). Sin embargo, cuando el consumo de cereales fue mayor se reflejó en una menor concentración de PCR-us ($P<0.05$), así mismo el consumo reducido de aceites y grasas también repercutieron en cifras menores de un mg/L ($P=0.05$).

En mujeres, la ingesta de cereales, vegetales, lácteos, aceites y grasas no mostró efecto sobre el nivel de PCR-us ($P>0.05$). En cambio, el mayor consumo de frutas se relacionó con concentraciones menores a un mg/L de PCR-us ($P<0.05$).

Tabla 5. Niveles de Proteína C-reactiva ultrasensible en función de la ingestión diaria de grupos de alimentos por género.

		PCR-us <1 (mg/L)	1>PCR-us<10 (mg/L)	P
		Mediana (RI)	Mediana (RI)	
PCR-us (mg/L)	H	0.54 (0.35, 0.68)	3.22 (2.23, 4.23)	0.014
	M	0.78 (0.42, 0.97)	2.92 (1.62, 5.35)	0.001
Cereales (oz)	H	8.06 (4.63, 14.00)	4.57 (2.74,5.58)	0.003
	M	4.22 (2.52, 7.73)	5.22 (2.98, 8.79)	0.302
Frutas (taza)	H	0.94 (0.22, 1.32)	0.54 (0.22, 0.92)	0.556
	M	1.16 (0.32, 2.56)	0.62 (0.53, 1.13)	0.004
Vegetales (taza)	H	0.80 (0.36, 1.41)	0.27 (0.06, 0.99)	0.953
	M	0.98 (0.76, 1.51)	1.17 (0.66, 1.69)	0.402
Lácteos (taza)	H	0.93 (0.50, 2.64)	1.1 (0.75, 1.38)	0.69
	M	1.07 (0.62, 2.39)	1.45 (1.02, 1.975)	0.482
Carne ^o y frijoles (oz)	H	6.84 (2.71, 14.15)	4.96 (2.87, 7.81)	0.065
	M	4.67 (3.87, 6.07)	5.28 (4.75, 7.24)	0.312
Aceites y grasas (cdita)	H	5.3 (4.12, 5.71)	6.67 (6.63, 10.57)	0.05
	M	8.83 (6.63, 11.03)	5.8 (3.24, 9.2)	0.53

H= hombres, M = Mujeres; ^o Carne de res, aves, pescados y mariscos, diferencia significativa P<0.05.

En la Tabla 6 se presentan los resultados de tres modelos de regresión múltiple que asocian la concentración de PCR-us con los grupos de alimentos. Considerando una significancia estadística de P<0.05 Los tres modelos en todos los participantes relacionaron (P<0.05) la concentración de PCR-us con las frutas en forma negativa ($\beta = -0.16$, P= 0.025; $\beta = -0.17$, P= 0.019; $\beta = -0.06$, P= 0.016), no fueron significativos aquellos grupos de alimentos que arrojaron un valor de P>0.05. El modelo 3 relacionó positivamente los aceites y grasas con la concentración de PCR-us. En este mismo modelo se observó que cereales (P=0.09) y lácteos (P=0.08) tendieron a relacionarse con PCR-us.

Para los hombres, el modelo 1 y 2 no mostraron relación entre ningún grupo de alimento con la concentración de PCR-us (P>0.05), y el modelo 3 solamente relacionó positivamente los cereales con PCR-us (P<0.05).

En el grupo de las mujeres, los 3 modelos relacionaron negativamente al grupo las frutas con la concentración de PCR-us ($P < 0.05$). Adicionalmente, en el modelo 3 se observa una relación positiva entre aceites y grasas con la PCR-us ($P < 0.05$), mientras que el modelo 1 y 2 solamente mostraron una tendencia en la relación entre el grupo de aceites y grasas con la PCR-us ($P = 0.077$) y ($P = 0.057$) respectivamente.

Tabla 6. Relación de la PCR-us con los grupos de alimentos.

Género/ grupos de Alimentos	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	Coef β (IC)	P	Coef β (IC)	P	Coef β (IC)	P
Todos						
Cereales	0.02 (-0.01, 0.04)	0.208	0.02 (-0.01, 0.04)	0.193	0.02 (-0.01, 0.04)	0.090
Frutas	-0.16 (-0.30, -0.2)	0.025	-0.17 (-0.30, -0.03)	0.019	-0.06 (-0.29, 0.03)	0.016
Vegetales	3.09 (-0.03, 0.03)	1.00	0.02 (-0.03, 0.03)	0.924	-0.01 (-0.04, 0.03)	0.785
Carne ^o y frijoles	0.02 (-0.02, 0.07)	0.300	0.04 (-0.01, 0.08)	0.922	0.02 (-0.01, 0.08)	0.718
Lácteos	0.01 (-0.10, 0.12)	0.826	0.01 (-0.10, 0.11)	0.125	0.04 (-0.09, 0.12)	0.080
Aceites y grasas	0.02 (-0.01, 0.06)	0.148	0.02 (-0.01, 0.06)	0.127	0.03 (0.00, 0.01)	0.034
Hombres						
Cereales	0.04(-0.09, 0.08)	0.104	0.04 (-0.01, 0.08)	0.103	0.052(0.00, 0.01)	0.032
Frutas	-0.05 (-0.23, 0.13)	0.586	-0.01 (-0.20, 0.19)	0.955	-0.04 (-0.23, 0.15)	0.670
Vegetales	-0.05 (-0.17, 0.07)	0.369	-0.05 (-0.18, 0.08)	0.413	-0.09 (-0.23, 0.04)	0.159
Carne y frijoles	0.02 (-0.03, 0.08)	0.372	0.03 (-0.03, 0.08)	0.372	0.04 (-0.02, 0.01)	0.166
Lácteos	0.06 (-0.12, 0.24)	0.509	0.031 (-0.16, 0.22)	0.735	0.09 (-0.10, 0.28)	0.351
Aceites y grasas	-0.01 (-0.05, 0.04)	0.760	-0.01 (-0.62, 0.04)	0.760	0.00 (-0.04, 0.06)	0.744
Mujeres						
Cereales	0.02 (-0.01, 0.06)	0.167	0.02 (-0.01, 0.06)	0.160	0.03 (-0.001, 0.06)	0.134
Frutas	-0.29 (-0.53, -0.06)	0.015	-0.33 (-0.56 -0.11)	0.005	-0.03 (-0.53, -0.08)	0.009
Vegetales	0.01 (-0.03, 0.06)	0.509	0.023 (-0.02, 0.06)	0.271	0.01 (-0.53, -0.08)	0.457
Carne ^o y frijoles	0.04 (-0.04, 0.12)	0.314	0.05 (-0.02, 0.13)	0.161	0.05 (-0.03, 0.12)	0.205
Lácteos	0.01 (-0.01, 0.09)	0.910	0.03 (-0.12, 0.18)	0.711	0.03 (-0.12, 0.18)	0.696
Aceites y grasas	0.04 (-0.001, 0.09)	0.077	0.05 (-0.01, 0.09)	0.057	0.05 (0.00, 0.01)	0.033

Datos analizados con regresión lineal múltiple, diferencia significativa $P < 0.05$ indica una asociación importante entre las variables y la PCR-us. ° Carne de res, aves, pescados y mariscos
Modelo 1: Grupos de alimentos (cereales, frutas, vegetales, carne y frijoles, lácteos, aceites y grasas).
Modelo 2. Grupos de alimentos, edad e IMC;
Modelo 3. Grupos de alimentos, edad, IMC, % de grasa corporal.

En la Tabla 7 se presentan 3 modelos que relacionan el consumo de alimentos con las concentraciones de PCR-us. En los modelos 2 y 3 ningún grupo se asoció significativamente ($P > 0.05$). Sin embargo el grupo de carne y frijoles se relacionó ($RM = 1.63$, $P = 0.50$) con mayores concentraciones de la PCR-us. Por otro lado, en el modelo 1 los grupos que se relacionaron con menor concentración de la PCR-us, fueron las frutas ($RM = 0.23$, $P = 0.05$), los vegetales ($RM = 0.66$, $P = 0.64$) y los cereales ($RM = 0.67$, $P = 0.33$).

Tabla 7. Asociación del consumo de grupos de alimentos y el riesgo de presentar una concentración alta de proteína C-reactiva ultrasensible.

Grupos de Alimentos	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	RM(IC)	P	RM (IC)	P	RM (IC)	P
Todos						
Cereales	0.67(0.32, 1.41)	0.33	1.05 (0.40, 2.71)	0.52	0.97 (0.36, 2.63)	0.44
Frutas	0.23 (0.05, 1.03)	0.05	0.37 (0.07, 1.89)	0.23	0.32 (0.06, 1.49)	0.18
Vegetales	0.66 (0.12, 3.68)	0.64	0.39 (0.05, 2.82)	0.36	0.44 (0.05, 4.28)	0.48
Carne ^o y frijoles	1.63 (.39, 6.82)	0.50	1.32 (0.81, 2.12)	0.26	1.42 (0.86, 2.34)	0.16
Lácteos	1.22 (0.77, 1.93)	0.40	1.96 (0.40, 9.55)	0.40	2.17 (0.42, 11.12)	0.35
Aceites y grasas	0.94 (0.66, 1.35)	0.75	0.97 (0.66, 1.42)	0.86	1.04 (0.69, 1.57)	0.84

Datos analizados con el modelo de regresión logística, diferencia significativa $P < 0.05$. RM: Razón de Momios; Una RM mayor de uno, se interpreta como el riesgo de tener mayor concentración de PCR-us.

^oCarne de res, aves, pescados y mariscos.

Modelo 1: Grupos de alimentos (cereales, frutas, vegetales, carne y frijoles, lácteos, aceites y grasas).

Modelo 2. Grupos de alimentos, % de grasa corporal.

Modelo 3. Grupos de alimentos, edad, IMC, % de grasa corporal.

9.2.2 Nutrientes.

En la Tabla 8 se presenta el consumo de macronutrientes de la población estudiada. Con excepción de colesterol, el consumo de todos los macronutrientes fue similar ($P > 0.05$) entre hombres, mujeres o combinación de ambos géneros. El consumo de colesterol fue diferente ($P < 0.05$) entre todos los grupos por género, siendo menor en mujeres y mayor en hombres. Adicionalmente, en la Figura 6 se muestran los resultados de distribución de consumo de nutrientes de los participantes. El consumo de todos los nutrientes se distribuyó muy similar entre hombres y mujeres, pero éstos consumieron menos carbohidratos, AGS y AGP, y más azúcar y proteína que lo recomendado.

Tabla 8. Características del patrón alimentario de la población estudiada por género.

	Todos	Hombres	Mujeres	P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
PCR-us (mg/L)	1.66 (1.05, 2.67)	1.68 (0.61, 3.18)	1.67 (1.03, 3.11)	0.75
Energía (kJ)	6792.22 (5125.74, 9211.70)	1647.88 (1317.51, 2048.15)	1634.795 (1245.00, 2547.00)	0.95
Energía (kcal)	1647.88 (1277.46, 2253.98)	6894.72 (5512.47, 8569.44)	6464.77 (4936.20, 10425.52)	0.80
AGT (g)	51.72 (34.90, 73.83)	49.24 (35.04, 70.71)	55.52 (34.86, 82.94)	0.47
%	25.76 (12.52, 32,29)	23.12 (10.58, 31.13)	26.35 (16.28, 34.66)	0.38
AGS (g)	15.14 (10.05, 21.59)	14.72 (9.99, 17.51)	15.50 (10.23, 24.26)	0.54
%	9.06 (7.13, 10.90)	8.53 (6.30, 11.96)	9.64 (7.55, 10.79)	0.39
AGM (g)	18.01 (11.52, 29.24)	16.89 (11.40, 21.53)	20.38 (11.78, 32.46)	0.29
%	8.72 (5.61, 11.90)	7.53 (5.35, 11.67)	8.87 (5.62, 12.10)	0.94
AGP (g)	6.45 (4.56, 10.33)	6.52 (4.54, 9.15)	6.41 (4.62, 12.62)	0.46
%	3.23 (0.72, 4.79)	2.89 (0.27, 4.79)	3.33 (1.25, 4.93)	0.76
AGt (g)	0.33 (0.16, 0.55)	0.33 (0.18, 0.57)	0.32 (0.16, 0.50)	0.41
%	0.27 (0.13, 7.16)	0.24 (0.07, 10.17)	0.29 (0.17, 4.44)	0.34
Colesterol (mg)	217.96 (157.13, 303.09)	233.23 (154.72, 335.94)	203.38 (158.09, 272.67)	0.03
Carbohidratos g	225.93 (162.15, 307.53)	223.81 (162.73, 288.07)	237.55 (161.96, 327.48)	0.74
%	554.18 (47.64, 61.32)	54.38 (43.13, 60.41)	54.12 (49.11, 61.49)	0.97
Azúcares (g)	77.74 (57.90, 99.54)	70.10 (52.14, 93.67)	80.56 (63.27, 103.64)	0.19
%	19.93 (14.17, 23.94)	18.44 (13.23, 21.70)	20.49 (15.03, 26.39)	0.90
Fibra total(g)	15.28 (10.70, 22.49)	15.28 (11.18, 22.55)	15.44 (10.69, 22.32)	0.55
Proteínas (g)	64.01 (50.99, 85.20)	65.81 (48.59, 84.91)	63.42 (51.74, 87.53)	0.63
%	17.73 (15.72, 22.18)	19.32 (16.52, 25.29)	16.84 (15.57, 21.88)	0.34
CG	22.60 (15.06, 31.82)	22.67, (16.57, 36.97)	21.30 (16.31, 31.77)	0.60

AGT: ácidos grasos totales. AGS: ácidos grasos saturados. AGM: ácidos grasos monoinsaturados. AGP: Ácidos grasos poliinsaturados. AGt: ácidos grasos trans .CG: Carga Glucémica. Azúcares: sacarosa: P: comparación entre hombres y mujeres.

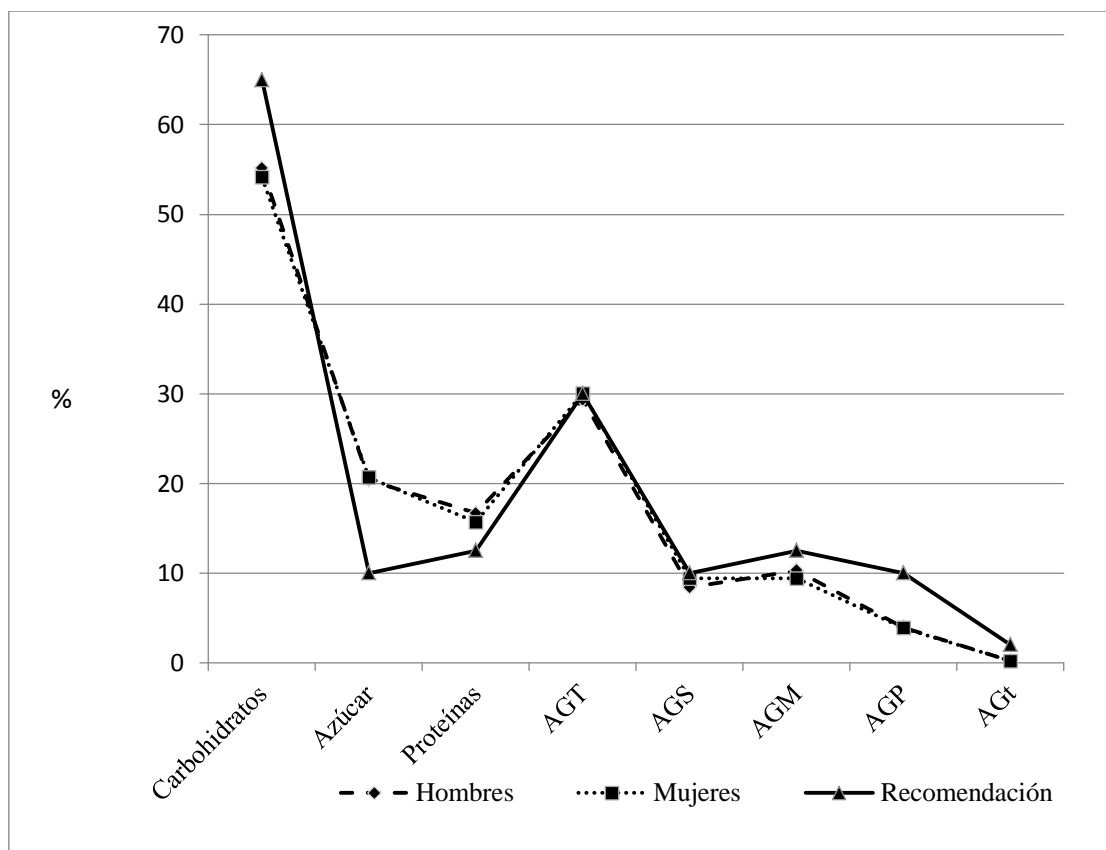


Figura 6 Distribución de nutrientes de todos los participantes. AGT: ácidos grasos totales; AGS: ácidos grasos saturados; AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos poliinsaturados; AGt: ácidos grasos trans.

En la Tabla 9 y Figura 7 se presentan los resultados de correlación entre concentración de PCR-us y consumo de nutrientes. Se observó asociación usando el r sin ajustar ($P < 0.05$) entre PCR-us y los AGS ($r = 0.26$), AGP ($r = -0.28$), azúcar ($r = -0.41$ y $r = -0.30$) AGt ($r = 0.23$), y las proteínas de la dieta ($r = 0.41$). Asimismo, una tendencia ($P = 0.078$) a correlacionarse la concentración de PCR-us con carbohidratos ($r = -0.21$) y la fibra ($r = -0.221$, $P = 0.058$). Usando el r ajustada, PCR-us se correlacionó ($P < 0.05$) con AGT ($r = -0.25$), carbohidratos expresados en porcentaje ($r = -0.25$), azúcares ($r = -0.43$ y $r = -0.35$) y proteína ($r = 0.43$ y $r = 0.37$). En caso de AGS, AGP y carbohidratos expresados se observó que tendieron ($0.05 > P < 0.10$) a correlacionarse con la concentración de PCR-us.

Tabla 9 Correlación de la PCR-us con los nutrientes del patrón de consumo alimentario.

	r	P	r	P
	(sin ajustar)		(ajustada)	
Energía (kJ)	0.056	0.347	0.183	0.185
Energía (kcal)	0.003	0.492	0.088	0.355
AGT (g)	-0.177	0.117	-0.155	0.191
(%)	-0.112	0.234	-0.247	0.037
AGS (g)	0.260	0.039	0.221	0.078
(%)	0.025	0.431	0.159	0.152
AGM (g)	0.079	0.298	0.076	0.315
(%)	0.062	0.344	0.063	0.344
AGP (g)	-0.276	0.029	-0.222	0.076
(%)	-0.134	0.432	-0.021	0.066
AGt (g)	0.235	0.029	0.178	0.127
(%)	0.092	0.284	0.141	0.181
Colesterol (mg)	-0.052	0.357	0.22	0.445
Carbohidratos (g)	-0.211	0.078	-0.232	0.097
(%)	-0.119	0.198	-0.255	0.047
Azúcar (g)	-0.409	0.002	-0.430	0.002
(%)	-0.297	0.015	-0.349	0.010
Fibra total (g)	-0.221	0.058	-0.085	0.239
Proteínas (g)	0.414	0.002	0.430	0.002
(%)	0.185	0.092	0.378	0.006
CG	0.009	0.477	0.047	0.381

AGT: ácidos grasos totales. AGS: ácidos grasos saturados. AGM: ácidos grasos monoinsaturados.

AGP: Ácidos grasos poliinsaturados. AGt: ácidos grasos trans .CG: Carga Glucémica. Azúcares: sacarosa

Coefficiente de correlación r: ajustada para la edad, IMC y % de grasa corporal, diferencia significativa P<0.05.

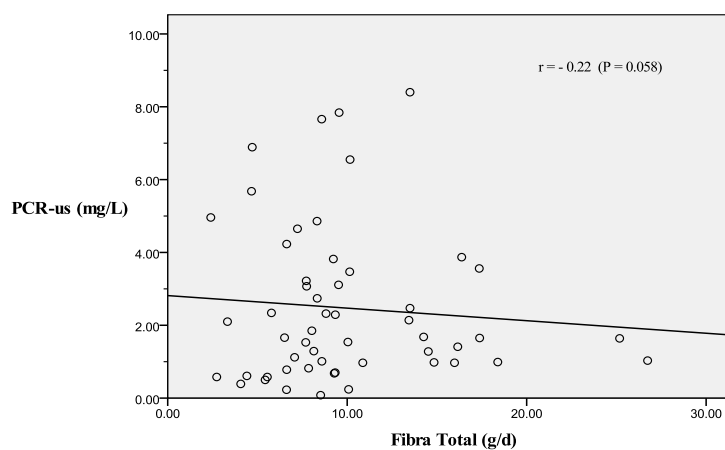
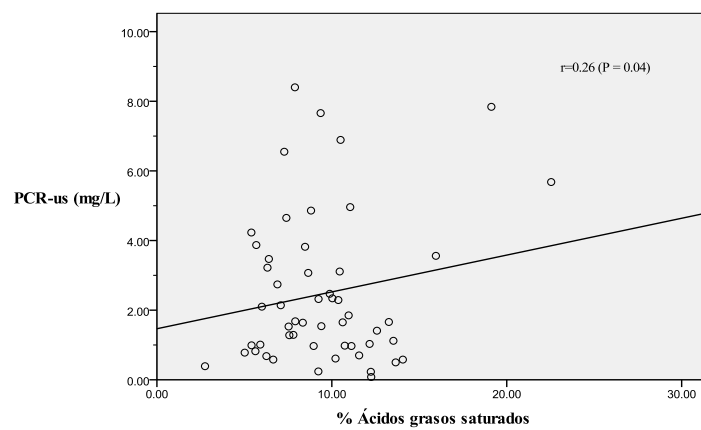
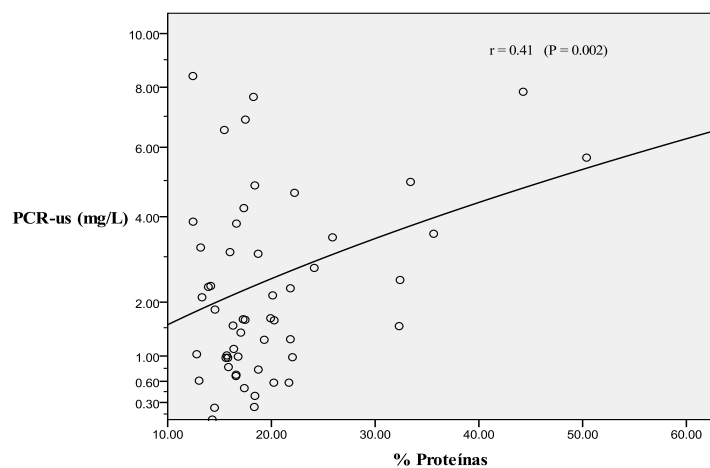


Figura 7. Análisis de regresión lineal de la PCR-us con el % de proteínas, el % de AGS y fibra total.

En la Tabla 10 se presentan los tres modelos que relacionan la PCR-us con los nutrientes, ninguno de los ellos se asoció ($P > 0.05$), sin embargo el coeficiente β de la fructosa fue de -0.055, y se fue ajustando hasta -0.402 con una RM de 0.58 y 0.35 para el modelo 1 y 3 respectivamente, el valor de P varió de 0.176 a 0.354 y el coeficiente β de la fibra total fue de -0.0023, y se fue ajustando hasta -0.031 con una RM de 0.98 y 0.97 para el modelo 1 y 3 respectivamente, el valor de P varió de 0.860 a 0.778.

Tabla 10. Resultados del análisis de regresión logística para los nutrientes de todos los participantes.

Nutrientes	Modelo 1			Modelo2			Modelo3		
	β	P	RM (95% IC)	β	P	RM (95% IC)	β	P	RM (95% IC)
kJ	0.000	0.330	1.00 (1.00, 1.00)	0.000	0.542	1.00 (1.00, 1.00)	0.000	0.566	1.00 (1.00, 1.00)
Grasa	0.615	0.115	1.85 (0.86, 3.97)	0.527	0.164	1.68 (0.80, 3.50)	0.574	0.135	1.78 (0.85, 3.74)
Colesterol	-0.001	0.908	1.00 (0.97, 1.02)	-0.003	0.756	1.00 (0.98, 1.02)	0.000	0.993	1.00 (0.98, 1.02)
Carbohidratos	0.239	0.154	1.27 (0.91, 1.77)	0.207	0.204	1.23 (0.89, 1.69)	0.227	0.169	1.25 (0.91, 1.73)
Almidón	0.171	0.307	1.19 (0.85, 1.65)	0.114	0.514	1.12 (1.00, 1.31)	0.148	0.442	1.16 (1.00, 1.29)
Fibra Total	-0.0023	0.822	0.98 (0.80, 1.20)	-0.019	0.860	0.98 (0.79, 1.21)	-0.031	0.778	0.97 (0.78, 1.20)
Fructosa	-0.055	0.176	0.58 (0.26, 1.28)	-0.474	0.253	0.62 (0.32, 1.29)	-0.402	0.354	0.67 (0.32, 1.34)
Azúcares	0.368	0.434	1.44 (0.57, 3.63)	0.124	0.800	1.13 (0.44, 2.97)	0.052	0.921	1.05 (0.38, 2.92)
Proteínas	0.328	0.087	1.39 (0.95, 2.02)	0.283	0.146	1.33 (0.91, 1.92)	0.303	0.118	1.35 (0.94, 1.97)
CG	-0.530	0.773	0.95 (0.66,1.36)	0.029	0.887	1.03 (0.69, 1.52)	-0.025	0.913	0.97 (0.63, 1.52)

Modelo 2 ajustado para edad; Modelo 3 ajustada par edad, IMC y % de grasa corporal.

Una RM mayor de uno, se interpreta el riesgo de tener mayor concentración de la PCR-us.

En la Tabla 11 se presentan los resultados de consumo de vitaminas y minerales de los participantes. El consumo de betacarotenos fue mayor ($P < 0.05$) en mujeres que en hombres, mientras que el consumo de vitamina A ($P = 0.07$), luteína y zeaxantina ($P = 0.07$) solamente

tendieron a incrementar en las mujeres comparado con los hombres. El consumo del resto de las vitaminas y minerales fue similar ($P>0.05$) entre hombres y mujeres.

Tabla 11. Vitaminas y minerales estimados del CFCA por género.

	Hombres	Mujeres	P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Vit A (µg)	1742.56 (655.23, 2865.03)	2104.93 (1237.96, 3330.60)	0.07
Vit D (µg)	4.54 (2.02, 55.59)	4.79 (2.70, 78.79)	0.60
Vit E (mg)	2.40 (1.27, 3.84)	2.46 (1.76, 3.89)	0.35
Vit C (mg)	61.45 (37.63, 110.50)*	65.42 (42.46, 115.09)*	0.78
Tiamina (mg)	1.35 (0.77, 2.01)	1.12 (0.76, 1.83)	0.47
Riboflavina (mg)	1.58 (0.92, 2.25)*	1.50 (1.15, 2.15)*	0.82
Niacina (mg)	13.17 (9.92, 21.64)*	12.79 (10.62, 19.92)	0.78
Vit B6 (mg)	1.52 (0.94, 2.08)*	1.30 (1.04, 1.85)	0.56
Vit B12 (µg)	3.57 (2.35, 6.93)*	4.12 (3.13, 5.88)*	0.85
Biotina (µg)	6.97 (3.75, 10.98)	9.58 (6.20, 12.55)	0.52
Sodio (mg)	1279.57 (1059.85, 2004.67)	1309.08 (1033.79, 2242.43)	0.85
Calcio (mg)	658.79 (448.29, 761.33)	668.12 (493.64, 882.21)	0.68
Potasio (mg)	1967.97 (1241.38, 2241.80)	1888.54 (1444.64, 2690.78)	0.58
Hierro (mg)	15.42 (8.66, 20.78)*	12.83 (8.67, 20.08)	0.63
Zinc (mg)	6.82 (3.91, 7.59)	5.21 (3.81, 8.25)	0.61
Ác. Linoleico (g)	3.70 (1.82, 5.35)	2.51 (1.67, 4.66)	0.81
Ác.Linolénico (g)	0.44 (0.24, 0.77)	0.40 (0.28, 0.62)	0.36
βcaroteno (µg)	1.91 (0.16, 3.73)	3.29 (1.84, 4.38)	0.04
Luteína y Z(µg)	424.34 (214.41, 740.77)	490.03 (249.61, 966.94)	0.07
Licopeno (µg)	37.65 (20.54, 115.77)	37.65 (20.54, 171.14)	0.36

*Cumplen con las recomendaciones de los nutrimentos para México. Z: zeaxantina. βcaroteno: betacaroteno, diferencia significativa $P<0.05$

En la Tabla 12 y Figura 8 se presentan los resultados de correlación entre concentración de PCR-us y vitaminas y minerales consumidas por los participantes. Solamente se detectó una

tendencia ($P=0.08$) a correlacionarse negativamente la vitamina A con PCR-us y correlaciones negativas para la mayoría de las vitaminas y minerales ($P>0.05$).

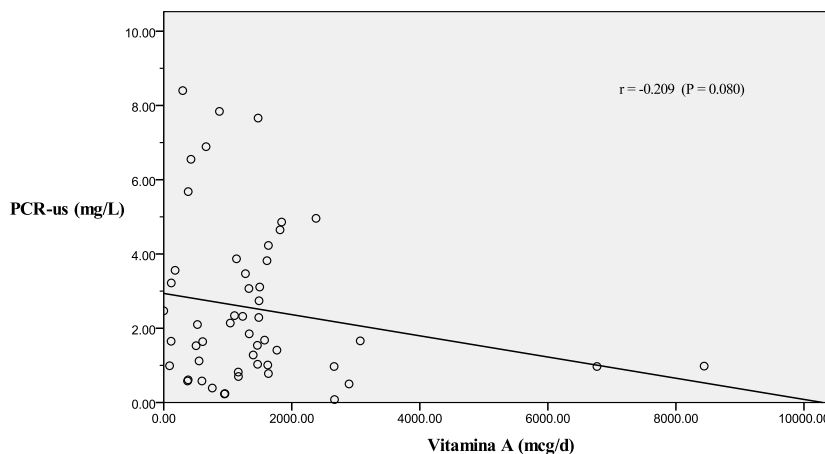


Figura 8. Análisis de regresión de la PCR-us con la vitamina A.

Tabla 12. Correlación de la PCR-us con vitaminas y minerales del patrón de consumo alimentario.

	r (sin ajustar)	P	r (ajustado)	P
Bcaroteno	-0.091	0.271	-0.166	0.143
Vit A	-0.209	0.080	-0.216	0.082
Vit B6	-0.134	0.185	-0.135	0.194
Vit B12	-0.133	0.187	-0.134	0.197
Vit B1	-0.164	0.184	-0.136	0.193
Vit B2	-0.135	0.183	-0.136	0.191
Vit B3	-0.140	0.173	-0.143	0.180
Biotina	-0.132	0.188	-0.134	0.196
Vit C	-0.152	0.154	-0.167	0.142
Vit D	-0.170	0.454	-0.154	0.366
Vit E	-0.130	0.192	-0.132	0.200
Calcio	-0.075	0.308	-0.135	0.194
Hierro	-0.131	0.191	-0.124	0.215
Potasio	-0.109	0.233	-0.190	0.112
Sodio	0.164	0.135	0.138	0.189
Zinc	-0.138	0.177	-0.139	0.187
Luteína y Z	0.060	0.345	0.001	0.496
Licopeno	-0.112	0.442	-0.090	0.283

r(ajustado): para la edad, IMC y % de grasa corporal. Z zeaxantina

9.4 Parámetros bioquímicos.

En la Tabla 13 se observa la influencia del género sobre los parámetros bioquímicos de los participantes. Las medianas de glucosa, HbA1c, CT, TG y LDL-C fueron similares ($P>0.05$) entre hombres y mujeres. Las concentraciones de HDL-C fueron diferentes ($P<0.05$) entre géneros, siendo mayor en mujeres y menor en hombres e intermedio en combinación de hombres y mujeres.

Tabla 13. Parámetros bioquímicos de los participantes.

	Todos	Hombres Mediana(RI)	Mujeres Mediana(RI)	P
Glucosa (mg/dL)	87.00(80.00, 99.00)	88.07 (80.0, 100)	84.0 (77.0, 95.50)	0.663
HbA1c (%)	7.15 (6.70, 8.35)	7.0 (6.2, 7.85)	7.6 (6.7, 8.5)	0.664
CT (mg/dL)	179.00 (165.00, 213.00)	179.0 (155.0, 202)	171.0 (160.5, 221.5)	0.097
TG (mg/dL)	157.00 (102.00, 193.00)	157.0 (74.0, 196)	157.0 (103.50, 187.0)	0.698
HDL-C (mg/dL)	34.00 (29.00, 38.00)	32.0 (28.0, 34.0)	36.0 (29.0, 39.0)	0.029
LDL-C (mg/dL)	159.00 (138.00,169.00)	160.0 (130.0, 171.1)	161.5 (134.75, 170.75)	0.776
n= 72		46.9%	53.10%	

HbA1c: hemoglobina glucosilada A1c; CT: colesterol total; TG: triglicéridos; HDL-C lipoproteínas de alta densidad colesterol; LDL-C lipoproteínas de baja densidad colesterol; diferencia significativa $P<0.05$.

En la Tabla 14 y Figura 9, se presentan los datos de los coeficientes de correlación, entre PCR-us y parámetros bioquímicos. Usando el r sin ajustar, la concentración de PCR-us se correlacionó positivamente con TG, en forma negativa con HDL-C y tendió ($0.05>P<0.10$) a correlacionarse con glucosa. No obstante, cuando se usó r ajustada, no se observó correlación entre PCR-us y los parámetros bioquímicos; aunque TG y HDL-C tendieron a correlacionarse con PCR-us cuando r fue ajustada.

Tabla 14. Coeficientes de correlación de los parámetros bioquímicos.

	r (sin ajustar)	P	r (ajustado)	P
Glucosa (mg/dl)	-0.200	0.076	0.097	0.245
HbA1c (%)	0.107	0.318	0.244	0.137
CT (mg/dl)	0.085	0.272	0.011	0.467
TG (mg/dL)	0.236	0.044	0.195	0.080
HDL-C (mg/dL)	-0.252	0.035	-0.181	0.097
LDL-C (mg/dL)	0.127	0.185	0.155	0.136

Ajustado para la edad, IMC y % grasa corporal. HbA1c: hemoglobina glucosilada; CT: colesterol total; TG: triglicéridos; HDL-C lipoproteínas de alta densidad colesterol; LDL-C lipoproteínas de baja densidad colesterol., diferencia significativa $P<0.05$

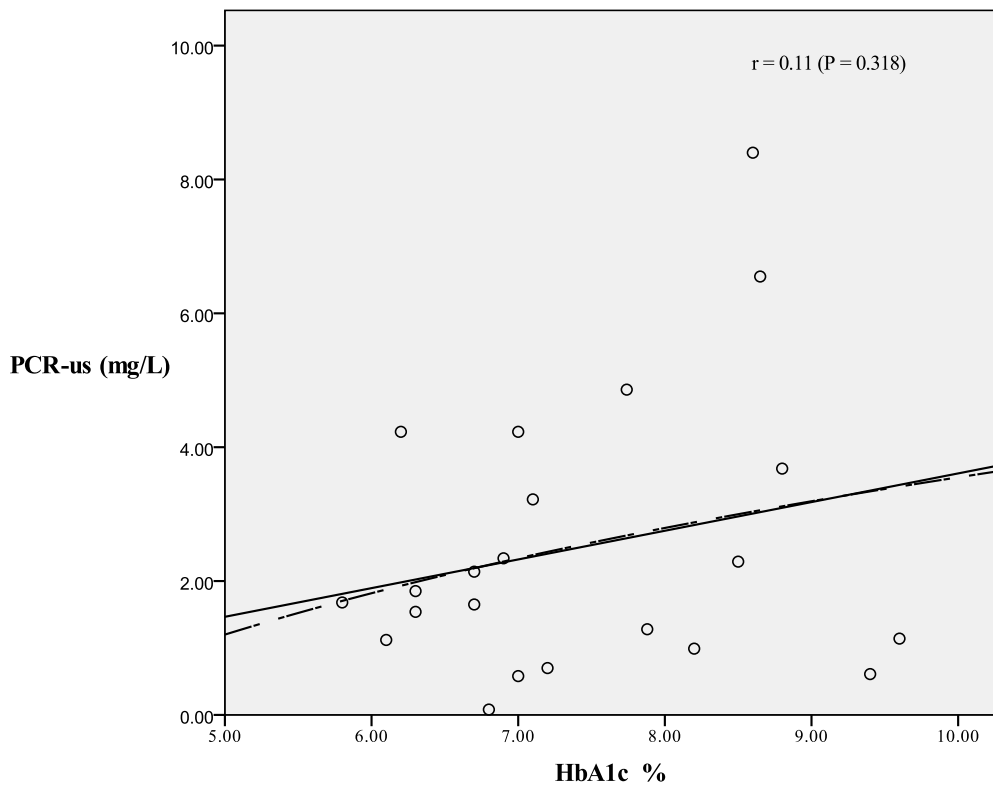
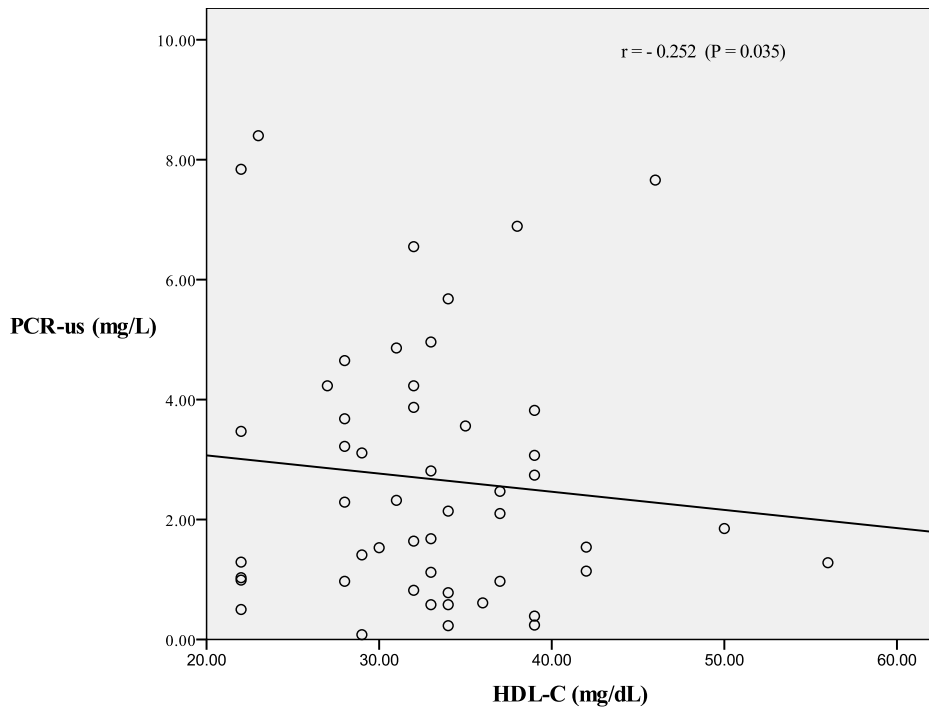


Figura 9. Análisis de regresión lineal de la PCR-us con la concentración de HDL-C y HbA1c

10.0 DISCUSIÓN

El grupo de profesores aparentemente sanos, presentó una concentración sérica de PCR-us de 3.87; RI: 2.33, 6.55 mg/L, que resultó mayor que la reportada en un metanálisis para una población latina con un IMC y edad similar a la que presentaron las personas de este estudio (mediana de 2.5; RI: 2.18, 2.86 mg/L)¹⁰. Este dato se obtuvo de investigaciones que reportaron niveles de PCR-us que estuvieron en el rango de 1.7 a 3.2 mg/L. En otro estudio, Flores y cols⁵⁸ evaluaron la concentración de PCR-us en una población adulta de la República Mexicana y también encontraron una menor concentración de 2.26 mg/L comparada con la encontrada en el presente estudio de 3.87 mg/L. En general esta diferencia posiblemente se debe a variaciones en las edades de la población que participó en cada investigación, ya que la población que estudiaron Flores y cols. fue 10 años menor que la de este estudio y el método que usaron para cuantificar la PCR-us fue por nefelometría⁷⁻⁸. Es importante señalar que de acuerdo con el IMC la población en ambos estudios presentó sobrepeso (IMC > 25).

Cabe destacar que de la muestra seleccionada para este trabajo, solo el 25% de los profesores presentaron concentraciones de PCR-us dentro de los valores de referencia (menor de 1 mg/L), lo cual sugiere que el resto de los profesores podrían estar en una etapa inicial subclínica y asintomática de algún proceso inflamatorio que los pudiera llevar a una ECV, DM2, Alzheimer o algunos tipos de cáncer¹¹.

En relación con los grupos de alimentos, el mayor consumo de frutas y vegetales se relacionó con cifras bajas de PCR-us, con una RM de 0.32 y 0.44 para cada grupo respectivamente, lo cual coincidió con lo observado en otra investigación en la que reportaron una RM de 0.73 y de 0.55 para esos grupos³⁴. Otros autores que consideraron a las frutas y los vegetales como un grupo encontraron valores de la RM de 0.78⁴⁸ y 0.79⁶⁷ respectivamente. En otra investigación realizada solo en hombres señalaron una RM de 0.76 para el grupo de las frutas⁶⁸.

En esta investigación se relacionaron las vitaminas A ($r = -0.209$, $P = 0.080$), C ($r = -0.152$, $P = 0.154$), D ($r = -0.170$, $P = 0.170$) y E ($r = -0.130$, $P = 0.1912$) con una menor concentración de PCR-us. El papel antiinflamatorio propuesto por algunos autores lo explican en función del contenido de ácido fólico en los vegetales y de vitaminas A y C en las frutas, además de otros compuestos antioxidantes, ya que contribuyen al funcionamiento normal de los vasos sanguíneos en el sistema circulatorio^{47, 48, 68}. Aunque también hay quien reportó que esta relación no es clara³⁴. Cabe señalar que ambos géneros cumplieron con la ingesta de vitamina C, riboflavina y de vitamina B12. En los hombres se observó que únicamente se cumplió con

la recomendación para niacina, vitamina B6 y hierro, mientras que el resto de vitaminas y minerales fue inferior a lo sugerido para mexicanos.

El grupo de los aceites y grasas presentó una asociación directa con la concentración de la PCR-us, datos que fueron consistentes con otras investigaciones^{28, 39, 69} en las que señalan que los responsables del incremento en los niveles de PCR-us son los AGS. Así mismo, una investigación en jóvenes de la India reportó que reduciendo 1% de la energía proveniente de los AGS la PCR-us disminuyó 0.14 mg/L³⁸.

Por otro lado, también se encontró la misma asociación con los AGS en suero de adultos suizos de 70 años de edad³⁹. Otros investigadores relacionaron positivamente el contenido de AGS de la dieta con la concentración plasmática de LDL-C^{70, 71}. Asimismo la oxidación de las LDL-C a su vez induce una disfunción endotelial, que puede representar el inicio o la existencia de un proceso de inflamación sistémico o crónico, mismo que se puede evidenciar con la concentración de la PCR-us generada en respuesta a este proceso³.

Cuando se estudió el efecto de los cereales sobre los niveles de PCR-us se observó que los hombres presentaron una asociación inversa y significativa. Esta información coincidió con otro estudio en hombres⁷².

En este estudio el consumo de lácteos fue de 1.2 y 1.36 raciones por día en hombres y mujeres, respectivamente. Estos datos fueron menores a los encontrados en una investigación que reportó una asociación inversa ($r = - 0.021$, $P= 0.06$) con la PCR-us en adultos sin evidencia clínica de enfermedad, mediante el consumo de 2 raciones diarias de este grupo⁴⁹.

Es importante mencionar que las raciones de frutas, vegetales y lácteos en este trabajo fueron menores a las recomendaciones para sus características de edad, peso y talla. El nivel socioeconómico de la muestra de estudio no fue evaluado en esta investigación, pero no se consideró limitante para la adquisición de estos grupos de alimentos.

Por otro lado, la ciudad de Mexicali, B.C., cuenta con un clima cálido la mayor parte del año, por lo que podría pensarse que los participantes tuvieran preferencia por alimentos frescos como las frutas y los vegetales. Además, estos grupos de alimentos se encuentran disponibles en la localidad, lo que nos lleva a pensar que los hábitos y costumbres de los participantes pueden ser determinantes para desarrollar ECNT.

Al analizar el consumo de macronutrientes se observó que los participantes cumplieron con el consumo de carbohidratos y lípidos, sin embargo las proteínas y los azúcares estuvieron por encima de la recomendación de la OMS²⁵.

Por otro lado, la cantidad de fibra fue de 14.98 g/día para hombres y 14.57 g/día en mujeres, valores menores a la recomendación. En esta muestra, en los hombres se observó una CG de 22.67, mientras que para las mujeres resultó de 21.30, la cual fue mayor a la CG sugerida en ambos sexos.

Es importante resaltar que en esta investigación se encontró una relación directa de la PCR-us con la HbA1c en personas que aún no están diagnosticadas con DM2 y que presentaron glucemia normal. Otros autores reportaron datos similares en personas con DM2^{15, 16} o con SM⁷³. Un autor sugirió realizar la cuantificación de HbA1c en familiares de diabéticos, ya que encontró valores alterados en el tercil superior de una muestra de 219 adultos sin DM2⁷⁴.

En relación con los lípidos, la mayoría de los participantes aparentemente sanos mostraron evidencias de dislipidemia, considerando esta condición como niveles de LDL-C mayores de 130 mg/dL, HDL-C menor que 45 en los hombres y menor que 55 mg/dL en las mujeres y TG mayores a 150 mg/dL⁷⁵. En otras investigaciones en personas sanas de edades e IMC similares a las que presentaron las personas en este estudio, reportaron asociación entre la PCR-us y el riesgo de ECV^{76, 77, 78}.

Es importante destacar que la ciudad donde se realizó el presente estudio está ubicada en la frontera con los Estados Unidos de América, por lo que prevalece una mezcla de culturas que resulta en una dieta diferente al resto de la República Mexicana y similar a la población americana.

11.0 CONCLUSIONES.

En este estudio de corte transversal, los datos sugieren que el mayor consumo de cereales, frutas y vegetales, además de fibra y vitamina A favorecen una menor concentración sérica de PCR-us. Mientras que una dieta rica en proteínas, ácidos grasos saturados y trans se asocia directamente con niveles elevados de PCR-us.

En relación con los parámetros bioquímicos se observa una asociación directa entre los niveles séricos de la PCR-us con la HbA1c y TG. Por otro lado la PCR-us se asocia inversamente con los niveles de HDL-C.

Estos hallazgos aunados a otras investigaciones permiten sugerir la inclusión de la cuantificación de la PCR-us y de la HbA1c como pruebas de laboratorio de rutina, ya que con la primera se podría evidenciar el riesgo de padecer un proceso inflamatorio subclínico y asintomático y la segunda además de estar asociada con la PCR-us, está relacionada con prediabetes, por lo tanto serían de ayuda para la detección oportuna de futuras ECNT.

12.0 BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía.

1. Amezcua G LM, Springall R, Bojalil R. Proteína C reactiva: aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda. Archivos de Cardiología de México. 2007; 77(1) 58-66.
2. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest. 2003; 111(12):1805-1812.
3. Serrano M, Morte S, Alvarez V, Zugarramurdi P, Palacios M. The inflammatory process of cardiovascular disease: new markers. An Sist Sanit Navar. 2001; 24(3):315-326.
4. Verdejo-París, J. Función endotelial. Archivos de cardiología de México, 2006; 76(Supl. 2): 164-169.
5. Badimón L, Martínez-González J. Endotelio en la protección vascular: nuevos conocimientos. Rev Esp Cardiol. 2002; 55:17-26.
6. Rodríguez, G, Mago N, Ago N, Rosa F. El papel de la inflamación en la aterogénesis. Invest Clín. 2009; vol.50: 109-129.
7. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. Clin Chem. 1997; 43(1):52-58.
8. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45:2136-2141.
9. US Food and Drug Administration. Review criteria for assessment of C-reactive protein (CRP), high sensitivity C-reactive protein, and cardiac C-reactive protein (cCRP) assays. 2005. Consultado 23 agosto 2008. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm071017.pdf>
10. Shah T, Newcombe P, Smeeth L, Addo J, Casas JP, Whittaker J, Miller MA, Tinworth L, Jeffery S, Strazzullo P, Cappuccio FP, Hingorani AD. Ancestry as a determinant of mean population C-reactive protein values. Implications for cardiovascular risk prediction. Cir Cardiovasc Genet. 2010; 3:436-444.
11. Galland L. Diet and Inflammation. Nutr Clin Pract. 2010; 25:634-640.
12. Consultado 15 Marzo 2012. Disponible en : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/index.html> ,

13. Oláiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Ávila M, Sepúlveda-Amor J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, Morelos: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
14. Instituto Nacional de Salud Pública Dirección de Epidemiología de la Nutrición. Encuesta Nacional de Salud y alimentación. 2012. Consultado en Noviembre 2012. Disponible en:
<http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf> .
15. King DE, Arch G, Mainous AG 3rd, Buchanan TA, Pearson WS. C-reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2003; 26:1535–1539.
16. Juárez-Rico MS, Mendoza- Núñez VM, Sánchez-Rodríguez M, Rosado-Jiménez J, Díaz-Romero MC, Ortega-Sánchez MA, Serrano-López A, Rosas-Barrientos JV Síndrome metabólico e inflamación en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Med Int Mex*. 2005; 21:409-416.
17. Ford ES. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care*. 1999; 22(12):1971-1977.
18. Wu T, Dorn JP, Donahue RP, Sempos CT, Trevisan M. Associations of serum C-reactive protein with fasting insulin, glucose, and glycosylated hemoglobin: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*. 2002; 155(1):65-71.
19. Fung TT, Rimm EB, Spiegelman D, Rifai N, Tofler GH, Willett WC, Hu FB. Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. *Am J Clin Nutr*. 2001; 73(1): 61-67.
20. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000; Mar 23; 342(12):836-843.
21. Rifai N, Ridker PM. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein and lipid screening. *Clin Chem*. 2001; Jan; 47(1):28-30.
22. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002; 347(20):1557-1565.
23. Ridker PM, Buring JE, Cook NC, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events: an 8-years follow-up 14 719 initially healthy American woman. *Circulation*. 2003; 107:391-397.

24. Yamamoto K, Okazaki A, Ohmori S. The relationship between psychosocial stress, age, subjects BMI, CRP, lifestyle, and the metabolic syndrome in apparently healthy subjects. *J Physiol Anthropol.* 2011; 30(1):15-22.
25. Bredbenner B, Moe C. *Wardlaw Perspectivas en Nutrición.* 8a ed. Editorial Mc Graw Hill. México. 2010: 35-65.
26. Vizmanos B, Hunot AC, Capdevila F. Alimentación y obesidad. *Investigación en Salud.* 2006; 8(2): 79-85.
27. Jenkins DJ, Kendall CW, McKeown-Eyssen G, Josse RG, Silverberg J, Booth GL, Vidgen E, Josse AR, Nguyen TH, Corrigan S, Banach MS, Ares S, Mitchell S, Emam A, Augustin LS, Parker TL, Leiter LA. Effect of a low-glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes. *JAMA.* 2008; 300 (23):2742-2753.
28. Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Franceschi S, Hamidi M, Marchie A, Jenkins AL, Axelsen M. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(suppl):266S–273S.
29. Venn BJ and Green TJ. Glycemic index and glycemic load: measurement issues and their effect on diet-disease relationships. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2007; 61:S122-S131.
30. Liu S, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB, Franz M, Sampson L, Hennekens CH, Manson JE. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(6):1455-61.
31. Du H, van der A DL, van Bakel MM, van der Kallen CJ, Blaak EE, van Greevenbroek MM, Jansen EH, Nijpels G, Stehouwer CD, Dekker JM, Feskens EJ. Glycemic index and glycemic load in relation to food and nutrient intake and metabolic risk factors in a Dutch population. *Am J of Clin Nutr.* 2008; 87(3): 665-661.
32. Liu S, Manson JE, Buring JE, Stampfer MJ, Willet WC, Ridker PM. Relation between a diet weight a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-age women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(3): 492-498.
33. Levitan EB, Mittleman MA, Hakansson N, Wolk A. Dietary glycemic index, dietary glycemic load, and cardiovascular disease in middle-aged and older Swedish men. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85:1521-1526.

34. Pereira MA, Swain J, Goldfine AB, Rifai N, Ludwig DS. Effects of a low-glycemic load diet on resting energy expenditure and heart disease risk factors during weight loss. *JAMA*. 2004; 292(20): 2482-2490.
35. Oliveira A, Rodriguez-Artalejo F, Lopes C. The association of fruits, vegetables, antioxidant vitamins and fiber intake with high sensitivity C-reactive protein: sex and body mass index interactions. *Eur J Clin Nutr*. 2009; 63: 1345-1352.
36. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D. Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome. *JAMA*. 2004; 292(12): 1440-1446.
37. Ma Y, Griffith JA, Chasan-Taber L, Olendzki BC, Jackson E, Stanek EJ 3rd, Li W, Pagoto SL, Hafner AR, Ockene IS. Association between dietary fiber and serum C-reactive protein. *Am J Clin Nutr*. 2006; 83(4): 762-766.
38. King DE, Mainous AG 3rd, Egan BM, Woolson RF, Geesey ME. Effect of psyllium fiber supplementation on C-reactive protein: the trial to reduce inflammatory markers (TRIM). *Ann Fam Med*. 2008; 6(2):100-106.
39. Arya S, Isharwal S, Misra A, Pandey RM, Rastogi K, Vikram NK, Dhingra V, Chatterjee A, Sharma R, Luthra K. C-reactive protein and dietary nutrients in urban Asian Indian adolescents and young adults. *Nutrition*. 2006; 2(9):865-871.
40. Petersson H, Lind L, Hulthe J, Elmgren A, Cederholm T, Risérus U. Relationships between serum fatty acid composition and multiple markers of inflammation and endothelial function in an elderly population. *Atherosclerosis*. 2009; 203(1):298-303.
41. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, Rimm EB. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79(4):606-612.
42. Schwingshackl L, Strasser B, Hoffmann G. Effects of monounsaturated fatty acids on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Ann Nutr Metab*. 2011; 59(2-4):176-186.
43. Chacko SA, Song Y, Nathan L, Tinker L, de Boer IH, Tylavsky F, Wallace R, Liu S. Relations of dietary magnesium intake to biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in an ethnically diverse cohort of postmenopausal women. *Diabetes Care*. 2010; 33(2):304-310.
44. Bo S, Durazzo M, Guidi S, Carello M, Sacerdote C, Silli B, Rosato R, Cassader M, Gentile L, Pagano G. Dietary magnesium and fiber intakes and inflammatory and

- metabolic indicators in middle-aged subjects from a population-based cohort. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(5):1062-1069.
45. Gaskins AJ, Mumford SL, Rovner AJ, Zhang C, Chen L, Wactawski-Wende J, Perkins NJ, Schisterman EF; BioCycle Study Group. Whole grains are associated with serum concentrations of high sensitivity C-reactive protein among premenopausal women. *J Nutr.* 2010; 140: 1669-1676.
 46. Gastrich MD, Lasser NL, Wien M, Bachmann G. Dietary Complex Carbohydrates and Low Glycemic Index/Load Decrease Levels of Specific Metabolic Syndrome/Cardiovascular Disease Risk Factors. *Top Clin Nutr.* 2008; 23:76-96.
 47. Gao X, Bermudez OI, Tucker KL. Plasma C-reactive protein and homocysteine concentrations are related to frequent fruit and vegetable intake in Hispanic and non-Hispanic white elders. *J Nutr.* 2004; 134: 913-918.
 48. Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadhakht L, Hu FB, Willett WC. Fruit and vegetable intakes, C-reactive protein, and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 1489-1497.
 49. Panagiotakos DB, Pitsavos CH, Zampelas AD, Chrysohoou CA, Stefanadis CI. Dairy products consumption is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease in apparently healthy adults: the ATTICA study. *J Am Coll Nutr.* 2010; 4:357-364.
 50. Fung TT, Rimm EB, Spiegelman D, Rifai N, Tofler GH, Willett WC, Hu FB. Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(1): 61-67.
 51. Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P. C-reactive protein and nutrition. *Bratisl Lek Listy.* 2005; 106(11):345-347.
 52. Hilpert KF, Kris-Etherton PM, West SG. Lipid response to a low-fat diet with or without soy is modified by C-reactive protein status in moderately hypercholesterolemic adults. *J Nutr.* 2005; 135: 1075–1079.
 53. Salas-Salvadó J, Garcia-Arellano A, Estruch R, Marquez-Sandoval F, Corella D, Fiol M, Gómez-García E, Viñoles E, Arós F, Herrera C, Lahoz C, Lapetra J, Perona JS, Muñoz-Aguado D, Martínez-Gonzalez MA and Ros E. PREDIMED investigators. Components of the mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr.* 2008; 62:651-659.

54. Norman AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle K, Estruch R, Briel M. Meta-analysis comparing Mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. *The American Journal of Medicine*. 2011; 124: 841-851.
55. Roopakala MS, Pawan HR, Krishnamurthy U, Wilma Delphine Silvia CR, Eshwarappa M, Prasanna Kumar KM. Evaluation of high sensitivity C-reactive protein and glycated hemoglobin levels in diabetic nephropathy. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2012; 23(2):286-289.
56. García-Moll X, Ordóñez-Llanos J. Role of hs-CRP measurements in the current cardiovascular risk assessment. *Clin Chim Acta*. 2005; 355(1-2):215-218.
57. Análisis de Situación: Enfermedades Crónicas No transmisibles. Consultado en 18 Mayo 2012. Disponible en:
http://new.paho.org/gut/index.php?option=com_content&task=view&id=494&Itemid=259 OMS, 2006.
58. Flores M, Barquera S, Carrión C, Rojas R, Villalpando S, Olaiz-Fernández G, González-Villalpando C. Concentraciones de proteína C-reactiva en adultos mexicanos: alta prevalencia de un factor de riesgo cardiovascular. *Salud Publica Mex*. 2007; 49:S348-S360.
59. Cade J, Thompson R, Burley V, and Warm D. Development, validation and utilization of food frequency questionnaires- a review. *Public Health Nutr*. 2002; 5(4):567-587
60. Majem LS, Bartrina JA. *Nutrición y Salud Pública*. Editorial Díaz de Santos. Barcelona, 2006.
61. Hernández-Avila M, Romieu I, Hernández-Avila J, Madrigal H, Willett W. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex*. 1998; 40(2):133-140.
62. Barquera S, Hernández-Barrera L, Campos-Nonato I, Espinosa J, Flores M, J AB, Rivera JA. Energy and nutrient consumption in adults: analysis of the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex*. 2009; 51 Suppl 4:S562-S573.
63. Rodríguez-Ramírez S, Mundo-Rosas V, Jiménez-Aguilar A, Shamah-Levy T. Methodology for the analysis of dietary data from the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex*. 2009; 51 Suppl 4:S523-S529.
64. Aparicio MR, Estrada LA, Fernández C, Hernández RM, Ruiz M, Ramos D, Rosas M, Valverde E, Ángeles E. *Manual de Antropometría*. CONACYT. Instituto Nacional

- de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Departamento de Nutrición Aplicada y Educación Nutricional. 2004. 2ª ED. México DF.
65. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18(6):499-502.
 66. Wannamethee SG, Lowe GD, Rumley A, Bruckdorfer KR, Whincup PH. Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes, and markers of inflammation and hemostasis. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83: 567-574.
 67. Hermesdorff HH, Zulet MA, Puchau B, Martínez JA. Fruit and vegetable consumption and proinflammatory gene expression from peripheral blood mononuclear cells in young adults: a translational study. *Nutr Metabol.* 2010; 7(42): 1-12.
 68. King DE, Egan BM, Geesey ME. Relation of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein. *Am J Cardiol.* 2003; 92(11):1335-1339.
 69. Rubio MA. Dieta y prevención de enfermedad coronaria. *Clin Invest Aterioscl.* 2010; 22(2): 58-69.
 70. Pedersen JI, James PT, Brouwer IA, Clarke R, Elmadfa I, Katan MB, Kris-Etherton PM, Kromhout D, Margetts BM, Mensink RP, Norum KR, Rayner M, Uusitupa M. The importance of reducing SFA to limit CHD. *Br J Nutr.* 2011; 106(7):961-963.
 71. Kim J, Jo I. Grains, vegetables, and fish dietary pattern is inversely associated with the risk of metabolic syndrome in South Korean adults. *J Am Diet Assoc.* 2011; 111(8):1141-1149.
 72. Tamakoshi K, Yatsuya H, Kondo T, Hori Y, Ishikawa M, Zhang H, Otsuka R, Zhu S, Toyoshima H. The metabolic syndrome is associated with elevated circulating C-reactive protein in healthy reference range, a systemic low-grade inflammatory state. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; 27(4):443-449.
 73. Osei K, Rhinesmith S, Gaillard T, Schster D. Is glycosylated Hemoglobin A1c a surrogate for metabolism syndrome in nondiabetic, first-degree relatives of African-American patients with type 2 diabetes? *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(10): 4556-4601.
 74. Consultado en 15 Junio 2010. Disponible en:
<http://www.cdc.gov/cholesterol/faqs.htm#5>.

75. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002; 347(20):1557-1565.
76. Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, Ridker PM, Reed G, Stanek E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem.* 2001; 47(3):444-450.
77. Jialal I, Devaraj S. Inflammation and atherosclerosis: the value of the high-sensitivity C-reactive protein assay as a risk marker. *Am J Clin Pathol.*2001; 116 Suppl: S108-S115.
78. Ashfaq S, Abramson JL, Jones DP, Rhodes SD, Weintraub WS, Hooper WC, Vaccarino V, Alexander RW, Harrison DG, Quyyumi AA Vaccarino V, Alexander RW, Harrison DG, Quyyumi AA. Endothelial function and aminothiols biomarkers of oxidative stress in healthy adults. *Hypertension.* 2008 Jul; 52(1):80-85.

13.0 ANEXOS

Anexo 1. Carta de invitación a participar en la investigación.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

Mexicali, B. C. 8 de junio, 2009

Estimado Maestro:

Por este medio de la presente, los invito a participar en una investigación que se denomina “Asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y marcadores bioquímicos en profesores universitarios” anexo un resumen de dicha investigación, la cual es el tema de mi tesis del programa de Doctorado en Ciencias de la Salud el cual se imparte en la Facultad de Medicina Mexicali dependiente de esta institución.

Motivo por el cual deseo verlos en una reunión el próximo miércoles 29 de abril durante el transcurso de la mañana en (lugar de la reunión) de su facultad. Les explicaré el procedimiento de la participación en la investigación. De contar con su aceptación ese día les realizaré una encuesta dietética, y otro día que ustedes me indiquen, les realizaremos una valoración clínica, antropométrica y bioquímica.

Espero contar con su presencia, si alguno de sus compañeros no fue seleccionado y desea participar, lo podemos considerar.

Sin otro particular, quedo a sus órdenes.

Atentamente

MC Josefina Ruiz Esparza Cisneros

Profesor de T/C

Anexo 2. Resumen de la investigación.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

Asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y marcadores bioquímicos en profesores universitarios.

Resumen de la investigación.

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) representan la principal causa de morbilidad y mortalidad tanto en el mundo como en México. Se calcula que para el 2015 morirán cerca de 20 millones de personas por ECV, sobre todo por cardiopatías y accidente cerebro vascular cerebral (AVC).

El impacto económico en México, por las ECV aunadas a otros factores asociados como el sobrepeso, la obesidad y enfermedades crónicas no está cuantificado con precisión, sin embargo es considerable por las implicaciones hospitalarias en ocasiones, atención médica permanente, tratamiento farmacológico, psicológico y dieta, que involucran.

Sobre la base de estas evidencias, ha tomado relevancia la determinación de la proteína c-reactiva ultrasensible (PCR-us). Considerando que la PCR-us se encuentra en cantidades menores en estadios tempranos de los procesos inflamatorios, se han desarrollado métodos ultrasensibles, los cuales aunados a otras pruebas de diagnóstico clínico tales como hemoglobina glucosilada, y perfil lipídico, se proponen como un diagnóstico preventivo, antes de la manifestación de los padecimientos antes mencionados.

Una característica, de la PCR-us, es que se incrementa tempranamente cuando hay inflamación del endotelio vascular. Es importante investigar los niveles de la misma, asociada a otros parámetros clínicos tales como el perfil lipídico y la hemoglobina glucosilada en personas sin evidencia clínica de enfermedad.

Cuando esta proteína se encuentra en concentraciones mayores a los parámetros de referencia, se debe considerar un cambio en el estilo de vida, lo cual involucra un incremento de la actividad física y dieta equilibrada. Unos autores sugieren considerar los alimentos de bajo índice glucémico, otros el aumento del consumo de frutas y vegetales, o bien la reducción del consumo de ácidos grasos saturados. La mayoría de estos artículos, sugiere mayor investigación para reforzar las evidencias antes mencionadas.

En este trabajo se plantea evaluar la posibilidad de contar con una herramienta que consiste en el diagnóstico oportuno, para apoyar a los programas de prevención de enfermedades crónicas, la población podrá tener mejor calidad de vida y las instituciones podrán reducir el gasto considerado en este rubro.

Esta investigación tiene un impacto a nivel de la población que está en riesgo de desarrollar enfermedades crónicas.

La muestra para esta investigación serán profesores de tiempo completo que laboren en el campus de Mexicali, de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Los profesores participantes Una vez seleccionada la muestra, habiendo cumplido con los correspondientes criterios establecidos, se les realizarán una valoración clínica, antropométrica, consumo de alimentos y pruebas bioquímicas.

MC Josefina Ruiz Esparza Cisneros

Responsable de la investigación.

Anexo 3. Carta de consentimiento

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI
CARTA DE CONSENTIMIENTO

“Asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y marcadores bioquímicas en personas sanas”.

El propósito de esta carta de consentimiento informado es darle la información necesaria para que usted decida su participación en esta investigación.

Personal Participante:

Nombre del Investigador responsable: MC Josefina Ruiz Esparza Cisneros.

Asesor: Dr. Octavio Robinson Navarro (UABC).

Asesor Externo: Dra. Isabel Ortega Vélez (CIAD).

Personal de apoyo. Pasantes de la Licenciatura en Medicina. Estudiante de 9º Sem.

Estoy de acuerdo en participar en esta investigación en las páginas que he firmado. La decisión de participar la he tomado por mí mismo y tengo derecho a decidir no seguir participando en cualquier momento de la investigación.

Me han explicado en qué consiste, he realizado las preguntas que he querido y me las han respondido.

No tengo la obligación de participar en este estudio si no lo deseo.

Si deseo interrumpir cualquier prueba en cualquier momento, se lo comunicaré al Médico investigador para que las suspenda de inmediato.

Puedo decidir no seguir participando en esta investigación por cualquier razón y nadie se molestará conmigo por negarme a participar.

A quien corresponda:

Yo, declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el proyecto de investigación “Asociación de la proteína c-reactiva ultrasensible con la dieta y marcadores bioquímicos en personas sanas”.

Nombre _____ Firma _____

No Empleado _____ Edad _____ Fecha: _____ email: _____

Firma del Responsable de la Inv. _____

Testigo: Nombre _____ Firma _____

Anexo 4. Carta informativa.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

CARTA INFORMATIVA

“Asociación de la proteína C-reactiva ultrasensible con la dieta y marcadores bioquímicas en personas sanas”.

El propósito de esta carta informativa es darle la información complementaria para que usted decida su participación en esta investigación.

Personal Participante:

Nombre del Investigador responsable: MC Josefina Ruiz Esparza Cisneros.

Asesor: Dr. Octavio Robinson Navarro (UABC).

Asesor Externo: Dra. Isabel Ortega Vélez (CIAD).

Personal de apoyo. Pasantes de la Licenciatura en Medicina. Estudiante de 9º Sem.

Propósito: Se le ha solicitado a usted su autorización para participar en la investigación, de la cual se le entregó previamente un resumen por escrito. Su participación consiste en que nos permita realizarle una valoración clínica, bioquímica antropométrica y dietética. Se cuenta con personal entrenado y capacitado para realizar el trabajo correspondiente, en la unidad académica de los participantes, o próxima a su lugar de trabajo.

Riesgos del estudio: no se identifican riesgos.

Beneficios de la investigación: al profesor se le entregará un reporte de su estado de salud de acuerdo a los datos obtenidos. La atención que se le dé será gratuita.

Costos: no implica costos para el participante.

Compensación: no recibirá ninguna compensación monetaria por participar en esta investigación.

La participación es voluntaria. Puede hacer cualquier pregunta a su médico tratante y tiene derecho a obtener respuestas adecuadas.

Preguntas: usted puede ponerse en contacto con la Maestra Josefina Ruiz Esparza Cisneros en la Facultad de medicina Mexicali te 557 16 22 ext. 117, o bien el e-mail: josefinaruizesparza@yahoo.com si tiene alguna pregunta relacionada con su participación o sobre la investigación.

Josefina Ruiz Esparza Cisneros.

Valoración Clínica

Fecha: _____ Hora: _____ Lugar: _____

Anexo 5. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

Nombre _____

Escuela o Facultad _____ Fecha _____
 Para que este estudio sea de utilidad, es muy importante que contestes **todas** las preguntas con el mayor cuidado y sinceridad posible. Todas las respuestas serán **estrictamente confidenciales**.
 Este no es un examen, no hay respuestas correctas o incorrectas, pero por favor trabaja con cuidado.

Peso: _____	Estatura: _____	Edad: _____	Actividad Física: ___ Ligera ___ Moderada ___ Intensa
-------------	-----------------	-------------	---

I.- Cuestionario de Frecuencia de Alimentos:

Para cada alimento, señalar con una X cuantas veces has tomado la cantidad que se indica durante la semana pasada, especificando cuantas veces al día.

I. LÁCTEOS	Cuánto comió	Días a la semana				Veces al día				Total
	Cada Vez?	Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
1.- Leche entera (1vaso o taza de 240 ml)										
2.- Leche descremada (1vaso de 240 ml)										
3.- Yogur (1 vasito de 150 ml)										
4.- Queso (1 rebanada 30 g)										
II. FRUTAS	Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
5.- Naranja (una mediana, 160 g)										
6.- Plátano (1 mediano de 116 g)										
7.- Manzana (1 pieza mediana, 140g)										
8.- Melón (1 rebanada o ¾ de taza, 115g)										
9.- Jícama (¾ de taza)										
10.- Mandarina (1 pieza mediana, 100 g)										
11.- Guayaba (1 pieza mediana, 50 g)										
12.- Papaya (1 taza)										
III.- VEGETALES	Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
13.- Espinacas (1/2 taza o 85 g)										
14.- Lechuga (3/4 taza o 59 g)										
15.- Quelites (1/2 taza, 78 g)										
16.-Tomate (1/2 pieza, 30g)										
17.- Cebolla (una rebanada de 6 g)										
18.-Zanahoria (una pieza chica de 50 g)										
19.- Calabacita (una pieza chica de 50 g)										
20.- Chile (1/2 pieza mediana de 1.5 g o 1/1/2 cucharada sopera de salsa picante)										
IV. HUEVOS, CARNES, Y EMBUTIDOS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
21.- Carne de res, (1 bistec de 85g)										
22.- Carne de puerco (1 bistec de 85 g)										
23.- Embutidos: jamón (1 rebanada 30g)										
24.- Salchichas (1)										
25.- Hamburguesa (1 pieza de 85 g)										
26.- Tocino (2 rebanadas 30 g)										
27.- Huevos de gallina (1)										
IV. HUEVOS, CARNES, Y EMBUTIDOS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
28.- Pollo con piel (1 pieza pierna, muslo) o media pieza de pechuga chica (85 g)										
29.- Pollo sin piel (1 pieza pierna, muslo) o media pieza de pechuga chica (85 g)										
V. PESCADOS Y MARISCOS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
30.- Pescado frito (1 filete de 90 g)										
V. PESCADOS Y MARISCOS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
31.- Pescado hervido o plancha (1 filete de 85g)										
32.- Mariscos: camarones (85 g o coctel chico)										
33.- Atún (60g, 1/2 lata)										
VI. LEGUMINOSAS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
34.- Frijoles (1/2 taza, 120g)										
VII. CEREALES Y TUBERCULOS	¿Cuánto por vez?	Días a la semana				Veces al día				Total
		Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	
35.- Pan blanco (una rebanada o un bolillo de 35 g)										
36.- Pan integral (una rebanada o un bolillo de 35 g)										
37. Pan multigrano (una rebanada, 35 g)										

38.- Pan dulce (1 pieza o 70 g)											
39.-Pastelillos industrial (1 pieza o 70 g)											
40.- Galletas (4 piezas o 20 g)											
41.- Pastas (1/2 plato de 50 g)											
42.-Papas cocidas o asadas (1 papa de 40 g)											
43.- Bolsa de papitas fritas (una bolsa pequeña 35g)											
44.- Arroz (1/2 taza)											
45.- Cereal de caja (1 taza 30 g)											
46.- Tortilla de maíz (1 pieza)											
47.- Tortilla de harina (1 pieza)											
48.- Avena (1/4 taza,											
VIII. BEBIDAS	¿Cuánto por vez?	Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	Total	
49.- Refrescos con gas: cola, naranja,(coca cola, fanta) (una 250 ml)											
50.- Jugo de frutas envasado (1 vaso de 120 ml)											
51.- Café (1 taza)											
52.- Café descafeinado (1 taza de 120 ml))											
53.- Té (1 taza de 240 ml)											
54.- Bebidas de frutas (un vaso de 120 ml)											
55.- Agua de horchata, jamaica, etc. (1 vaso 240 ml)											
56.- Consomé (120 ml)											
IX. ACEITES Y GRASAS	¿Cuánto por vez?	Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	Total	
57.- Aceite de oliva (1 cucharada)											
58.- Otros aceites vegetales: girasol, maíz, canola (1 cucharada)											
59.- Margarina añadida al pan o comida (una cucharada).											
60.- Mantequilla añadida al pan o a la comida (una cucharada)											
61.- Manteca de cerdo añadida a la comida (una cucharada)											
62. Mayonesa (una cucharita)											
63. Aderezo para ensalada (una cucharada)											
X. AZÚCARES	¿Cuánto por vez?	Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	Total	
62.- Azúcar (1 cucharadita de 10 g)											
63.- Chocolate (1 cucharada sopera o trozo de 10 g)											
64.- Dulce (1 pieza de 30 g)											
XI. HÁBITOS	¿Cuánto por vez?	Nunca	1 por sem	2-4 por sem	5-6 por sem	1 por día	2-3 por día	4-5 por día	6+ al día	Total	
1.- Acostumbras comer fuera de casa											
2.- Acostumbras pedir comida a domicilio											
3.- Acostumbras comer hamburguesas (una)											
4.- Acostumbras comer hot dogs (Uno preparado)											
5.- Acostumbras comer pizza (una rebanada)											
6.- Acostumbras Comida China (comida corrida)											
Otra.											
7.- Acostumbras desayunar		Si		En casa							
		No		Fuera de casa							
8. - Acostumbras comer a medio día		Si		En casa							
		No		Fuera de casa							
8.- Acostumbras cenar		Si		En casa							
		No		Fuera de casa							

II.- A continuación contesta las siguientes preguntas:

¿Cuánto tiempo dedicaste a las siguientes actividades en la última semana?

Señala con una X el cuadro que corresponda.

1.- ¿Cuántas horas a la semana dedicaste a actividades vigorosas como: jugar fútbol, básquetbol, voleibol, karate o artes marciales, andar en bicicleta, patinar o andar en patineta, bailar o tomar clase de baile, correr, hacer gimnasia, aerobics o ballet, nadar u otros juegos o deportes u actividades donde tengas que correr o te agites?	Nada	
	Menos de media hora a la semana	
	De media hora a dos horas a la semana	
	De 3 a 4 horas a la semana	
	De 5 a 6 horas a la semana	
	7 o más horas a la semana	
2.- ¿Cuánto tiempo dedicaste a actividades como limpiar o arreglar la casa, caminar (incluyendo ir caminando a la escuela), cargando cosas en el campo?	Nada	
	Menos de media hora a la semana	
	De media hora a dos horas a la semana	
	De 3 a 4 horas a la semana	
	De 5 a 6 horas a la semana	
	7 o más horas a la semana	
3.- ¿Cuántas horas ves televisión de lunes a viernes (sin contar tiempo jugando video juegos o viendo películas en videogradora o DVD)? Incluye el tiempo que veas televisión en la mañana, tarde o noche.	Nada	
	Menos de una hora	
	1-2 horas	
	3-4 horas	
	5-6 horas	
	7-8 horas	
	9 o más horas	

FACTORES DE RIESGO

1.- ¿Has fumado por lo menos cien cigarrillos (5 cajetillas) de tabaco durante toda tu vida?	Si	No	Nunca ha fumado			
2.- ¿Cuantos cigarrillos fumas o fumabas y con qué frecuencia?	Diario	Semanal	Mensual	Ocasional	Al menos una vez al año	No sabe
3.- ¿Actualmente tomas?	Si	No	Nunca ha tomado			
4.- ¿Con que frecuencia tomas? (5 copas o más en una ocasión)	Diario o casi todos los días					
	3 o 4 veces por semana					
	1 o 2 veces por semana					
	1 o 3 veces al mes					
	7 a 11 veces al año					
	3 a 6 veces al año					
1 a 2 veces al año						

Toma suplementos o multivitaminas si () no () cuáles? _____

Anexo 7. Procedimientos de antropometría.

Peso. El peso es la determinación antropométrica más común. Es de gran utilidad para observar la deficiencia ponderal en todos los grupos de edad. Es necesario que los individuos cumplan con los siguientes puntos:

- Estar en ayuno por lo menos 8 horas.
- Vestir ropa ligera y si algún material que pese (llaves, monedas, anillos, reloj, etc.)
- Descalzos y sin calcetines.
- No presentar edema.

Plano anatómico para la toma de mediciones antropométricas.

- De pie.
- Postura erguida y vista al frente.
- Brazos extendidos hacia los costados.
- Palmas de las manos tocando ligeramente los costados del muslo.
- Piernas sin flexionar.
- Talones juntos y puntas ligeramente separadas.

Estatura. La estatura de un individuo es la suma de 4 componentes: las piernas, la pelvis, la columna vertebral y el cráneo. El sujeto deberá estar de espaldas haciendo contacto con el estadímetro (colocado verticalmente) con la vista al frente en un plano horizontal; los pies formando ligeramente una V y con los talones entreabiertos. El piso y la pared donde esté instalado el estadímetro deben ser rígidos, planos (sin bordes) y formar ángulo recto (90°). Se deslizará la parte superior del estadímetro y al momento de tocar la parte superior más prominente de la cabeza, se tomará la lectura exactamente en la línea roja que marca la estatura. Esta medición se realizará por duplicado.

Circunferencia de cintura. El individuo debe estar relajado, erguido, de perfil; los brazos descansando sobre los muslos y el abdomen descubierto, en la posición descrita. Se palpa el

borde costal inferior y el borde superior de la cresta ilíaca, ambos del lado derecho. Con la cinta métrica se toma la distancia media vertical y después se hace lo mismo del lado izquierdo. Una vez marcada la media en los dos lados con un bolígrafo, se coloca la cinta sin comprimirla, alrededor de la cintura para medir la circunferencia tomando la lectura correspondiente. La medición será por triplicado.

Obesidad Central. Indicadores de acuerdo a la OMS

Indicador	Mujeres	Hombres
Circunferencia de cintura	>80	>90

El índice de masa corporal (IMC) explica las diferencias en la composición corporal al definir el nivel de adiposidad de acuerdo con la relación de peso a estatura, suele compararse su peso con una norma de referencia. Se determina según el criterio de la IMS a través de la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (kg)} / (\text{Talla (m)})^2$$

Puntos de corte para el IMC según criterio de la OMS

	IMC (kg/m ²)
Bajo peso	<18.5
Normal	18.5-24.9
Sobrepeso	25-29.9

Obesidad grado I	30-34.9
Obesidad grado II	35-39.9
Obesidad grado III	≥ 40

Análisis de impedancia bioeléctrica (BIA). El equipo se usó en esta determinación fue el RJL System, modelo Quantum II. Una vez obtenidos los datos, se obtuvo un reporte en el que se presenta el IMC, y el % grasa corporal del individuo, entre otros datos.

Procedimiento:

Instrucciones previas: Se deben de seguir rigurosamente las siguientes recomendaciones:

- El sujeto a ser evaluado no debe ingerir líquidos ni alimentos en un período de 4 horas antes de análisis.
- El sujeto a ser evaluado no debe ingerir líquidos ni alimentos en un período de 4 horas antes del análisis (se realizó en ayunas)
- No debe haber realizado ejercicios físicos las 12 horas previas al análisis.
- No debe haber ingerido alcohol 48 horas antes del análisis.
- No debe estar en tratamiento farmacológico con diuréticos, en el momento de la evaluación.
- No se realizaron análisis de impedancia bioeléctrica durante procesos febriles.
- La temperatura de la sala se mantuvo por debajo de los 35° C.
- Se retiran del sujeto a evaluar, todos los objetos metálicos (relojes, pulseras, joyas, etc.).

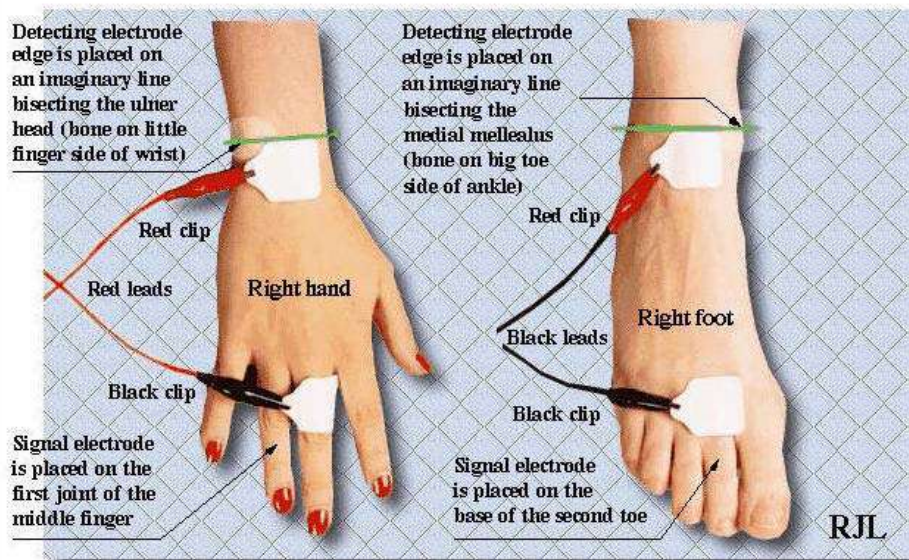
Equipo RJL Quantum II.



Posición del sujeto para la **Á**lisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA)

Se introduce una corriente de 800 μ A en monofrecuencia a través de dos, de los cuatro electrodos, colocados homolateralmente en muñeca y pie, con el sujeto en posición de decúbito supino, con las piernas separadas en un ángulo de 45° y los brazos ligeramente separados del tronco en un ángulo de aproximadamente 30°.

Posición de los electrodos en la mano y pie para la medición de BIA



Los 4 electrodos (dos transmisores y dos receptores) se colocan homolateralmente, en el lado derecho, sobre la superficie dorsal de la mano y del pie, en las siguientes posiciones: los distales, en la articulación metacarpo falángica y metatarso falángica y los proximales, en la

posición mediana entre la eminencia distal del radio y del cúbito de la muñeca y entre el maléolo lateral y medial del tobillo.

La distancia entre ambos electrodos debe de ser constante (desde el centro del mismo) de 5 cm en la mano y de 6 cm en el pie.

Antes de ser colocados los electrodos se limpia cuidadosamente la zona con alcohol. Los electrodos se conectan directamente al “pletismógrafo” ó *impedanciómetro programable* que emite la corriente y luego refleja en una pantalla cada una de las variables medidas, según las frecuencias programadas.



Anexo 8. Cuantificación de hemoglobina glucosilada HbA1c.



Eagle Diagnostics

Providing the World with
Quality Diagnostic Products

GENERAL DE APARATOS ANALÍTICOS
MÉDICOS, S. A. de C.V.

PROCEDIMIENTO DE GLICOHEMOGLOBINA

Para la Determinación Cuantitativa de Glicohemoglobina en la Sangre

SUMARIO Y EXPLICACION

A lo largo de la vida circulatoria de los glóbulos rojos, la glicohemoglobina es formada continuamente por la adición de glucosa a la terminal N de la cadena de la hemoglobina. Este proceso, el cual no es enzimático, refleja el promedio de la glucosa en la sangre sobre un periodo de tiempo extendido. En un estudio, Trivelli, et al (1) mostró que la glicohemoglobina en las personas diabéticas se encontraba elevada de 2 a 3 veces el nivel encontrado en personas normales. Varios investigadores han afirmado que la glicohemoglobina es un indicador del control diabético, ya que los niveles de glicohemoglobina se aproximan al valor normal cuando el paciente diabético responde al tratamiento (2-4).

La glicohemoglobina ha sido definida operacionalmente como la "fracción rápida" de la hemoglobina (HbA1a, A1b, A1c) la cual fluye primero durante la cromatografía en columna con resinas de intercambio iónico. La hemoglobina no glucosilada, que constituye el resto de la hemoglobina, ha sido designada HbA0. El procedimiento para la determinación de la glicohemoglobina emplea una resina de intercambio catiónico de unión tenue para la separación de la glicohemoglobina (fracción rápida) de la hemoglobina no glucosilada.

PRINCIPIO

Una preparación hemolizada de sangre entera se mezcla continuamente durante cinco minutos con una resina de intercambio iónico de ligadura tenue. Durante este tiempo, el HbA0 se une a la resina. Después del periodo de mezclado se usa un filtro separador para retirar la resina del líquido sobrenadante que contiene la glicohemoglobina. El porcentaje de glicohemoglobina se determina midiendo la absorbencia a 450 nm de la fracción de glicohemoglobina y la fracción de hemoglobina total, calculando la variación de las absorbencias, y comparando esta variación con la de un calibrador realizada durante el proceso de separación.

REACTIVOS: PARA USO IN-VITRO

Juego de Reactivos Cat. No. GH-110 suministra:

RESINA DE INTERCAMBIO IONICO PARA GLICOHEMOGLOBINA (Cat. No.GH-100)

INGREDIENTES REACTIVOS:

8 mg/dL de resina de intercambio iónico amortiguada a pH 6.9. MEZCLE BIEN ANTES DE USAR.

PRECAUCIONES:

Causa irritación. Evite el contacto con los ojos, piel y ropa. En caso de contacto lave con abundante agua.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacene de 15 - 30 grados C. Estable hasta la fecha de expiración marcada en la etiqueta.

DETERIORO:

El líquido sobrenadante encima de la resina debe ser claro e incoloro. La turbidez o coloración indicará deterioro y el reactivo no debe usarse.

INGREDIENTES REACTIVOS:

10mM Cianuro de potasio. Sufractante agregado.

PRECAUCIONES:

Contiene Cianuro. No mezcle con ácidos. Lávese las manos después de manejarse. Deseche al enjuagar con abundante agua.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacene de 15 - 30 grados C. Estable hasta la fecha de expiración marcada en la etiqueta.

DETERIORO:

El reactivo debe ser claro e incoloro. La turbidez o coloración indicará deterioro y el reactivo no debe usarse.

INSTRUMENTOS:

Use un espectrofotómetro o colorímetro calibrado a 415 nm. Eagle Diagnostic tiene disponible el instrumento GLYCO-METER que está diseñado para proporcionar un cálculo directo de este método para glicohemoglobina.

RECOLECCION DE LA MUESTRA

El procedimiento requiere el uso de sangre entera obtenida con EDTA como anticoagulante.

PRECAUCIONES:

Manéjese con las mismas precauciones usadas para todas las muestras de sangre.

ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA:

La glicohemoglobina permanece estable hasta por una semana de 2-8 grados C. en sangre entera usando EDTA como anticoagulante.

ADITIVOS:

No se requieren aditivos o preservativos especiales además de los anticoagulantes.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

La lipemia excesiva puede causar resultados altamente falsos. Para muestra excesivamente lipémica, centrifugue las células rojas y retire el plasma lipémico, reemplazándolo con una cantidad aproximadamente igual de salina. Resuspenda las células rojas en la solución salina y proceda con la prueba. Los HbS y HbC glicosilados se unen con la resina produciendo resultado bajos falsos. La hemoglobina fetal (HbF) no interfiere significativamente con el ensayo, la fracción inestable (aldimina) es eliminada durante la mezcla de la resina, por lo que no afecta el valor de la glicohemoglobina.

PROCEDIMIENTO

MATERIAL SUMINISTRADO:

JUEGO DE ENSAYO GLICOHEMOGLOBINA (Cat. No. GH-110) suministra Resina de Intercambio Iónico y Reactivo separador.

JUEGO DE REACTIVO PARA GLICOHEMOGLOBINA (Cat. No. GH-100) suministra el juego de ensayo GH-110 junto con los FILTROS SEPARADORES (Cat. No. GH-30) y el CALIBRADOR DE GLICOHEMOGLOBINA (Cat. No. GH-40) que se requieren para la realización de la prueba.

MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO:

1. Micropipetas de 0.02 mL y 0.10 mL.
2. Pipetas de 0.50 mL, 3.0 mL y 5.0 mL.
3. Tubos de ensayo 13 X 100 mm
4. Mezclador o centrifugador
5. Cronómetro y tablero de tubos de ensayo
6. Instrumento

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Nota: 1) El reactivo de Resina/Separador debe estar a temperatura ambiente antes de comenzar el procedimiento de prueba.

2) Cada muestra debe ensayarse; el Calibrador y los Controles requieren un tubo de ensayo para Separador, Separación de Resina y Total de Hemoglobina.

A. PREPARACION DE HEMOLIZADO:

1. Coloque 0.5 mL de Reactivo Separador (Lysing Reagent) en tubos etiquetados: CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, ETC.
2. Coloque 0.1 mL de muestra de sangre bien mezclada en un tubo debidamente etiquetado. Mezcle hasta que la separación completa sea evidente.
3. Permita reposar por 5 minutos.

B. SEPARACION DE GLICOHEMOGLOBINA:

Nota: Antes de usarse, mezcle bien la resina invirtiendo la botella por lo menos seis veces. Menee la botella entre cada servido.

1. Coloque 3.0 mL de Resina de intercambio iónico para Glicohemoglobina en tubos de 13 X 100 mL etiquetados: CALIBRADOR, CONTROL, MUESTRA 1, etc.
2. Coloque 0.1 mL del hemolizado del paso A en el tubo de resina propiamente etiquetado.
3. Coloque el filtro separador en el tubo de modo que la manga de goma esté aproximadamente a 2 cm por encima del nivel de líquido.
4. Coloque los tubos en el mezclador automático y mezcle continuamente durante 5 minutos.
5. Retire los tubos del mezclador o centrifugador.
6. Para facilitar la separación, permita que los tubos estén verticales en el tablero de tubos de ensayo durante unos cuantos minutos, luego empuje el filtro separador en el tubo hasta que la resina esté firmemente compactada.
7. Coloque el líquido sobrenadante en otro tubo o directamente en una cubeta para medir la absorbencia.
8. Ajuste el instrumento cero absorbencia a 415 nm utilizando agua desionizada como blanco.

9. Lea y registre los valores de absorbencia para CALIBRADOR, CONTROL MUESTRA 1, etc. Estas lecturas son para glicohemoglobina.

C. Fracción del Total de Hemoglobina

1. Coloque 5.0 mL de agua desionizada en tubos etiquetados: CALIBRADOR CONTROL, MUESTRA 1, etc.
2. Coloque 0.02 mL de hemolizado del Paso A en el tubo propiamente etiquetado. Mezcle bien.
3. Ajuste el instrumento cero absorbencia a 415 nm usando agua desionizada como blanco.
4. Lea y registre los valores de absorbencia para CALIBRADOR, CONTROL MUESTRA 1, etc. Estas lecturas son para el total de hemoglobina.

ESTABILIDAD DE LA REACCION FINAL DEL PRODUCTO:

Las muestras ensayadas deben leerse antes de una hora.

CALIBRACION:

El Calibrador de Glicohemoglobina (Cat. No. GH-40) tiene un valor asignado establecido por un método de referencia aceptado (1) y debe usarse para la calibración de este método. Refiérase a la hoja de instrucciones del instrumento para instrucciones especiales de manejo.

CONTROL DE CALIDAD:

La confiabilidad de los resultados de la prueba deben ser monitoreados regularmente usando materiales de control de calidad adecuados analizados de la misma manera que los Desconocidos. EAGLE DIAGNOSTICS tiene disponibles para este propósito tres niveles de control: Normal (GH-50), Medio (GH-70) y Elevado (GH-80). La falla en alcanzar los valores ensayados de materiales de control recién preparados debe ser ampliamente investigada antes de reportar los valores del paciente.

CALCULO DE RESULTADOS

Los usuarios del GLYCO-METER Eagle deben referirse al manual del instrumento para instrucciones completas. El cálculo mayor de resultados por los desconocidos debe determinarse de la siguiente manera.

Para cada muestra, calcule la variación (R) de la absorbencia de glicohemoglobina a la absorbancia total de hemoglobina. Use la siguiente ecuación para determinar las concentraciones de los Desconocidos:

$$1) \text{ Absorbencia Calibrador Glyco} = R (\text{Variación del Calibrador})$$

Absorbencia Calibrador Total

$$2) \text{ Absorbencia Desconocida Glyco} = (\text{Variación de Desconocidos})$$

Absorbencia Desconocida Total

$$3) \frac{R(\text{Variación de Desconocidos}) \times \text{Valor de Calibrador (5)}}{\text{Glyco \% de Desconocidos}}$$

R (Variación de Calibrado)

EJEMPLO:

Un calibrador conteniendo 10.0% de glicohemoglobina tuvo una Abs.+0.610 para la fracción de glicohemoglobina y una Abs.+ 0.635 para la fracción total de hemoglobina. Una muestra desconocida tuvo una Abs. de Glicohemoglobina = 0.775 y una Abs. de Total de Hemoglobina = 0.710, la concentración de glicohemoglobina del Desconocido es:

$$R \text{ Calibrador} = \frac{0.610}{0.635}$$

0.635

R Desconocido = $\frac{0.775}{1.09} = 1.09$

0.710

% Desconocido = $1.09 \times 10.0\% = 11.3\%$

0.961

LIMITACIONES

Las muestras de pacientes con hemoglobinopatías o tiempos disminuidos de supervivencia de células rojas pueden mostrar resultados incorrectos. Vea la Sección sobre RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA.

VALORES ESPERADOS:

Este procedimiento de Glicohemoglobina reporta valores como una Glicohemoglobina A1 (a+b+c):

NORMAL 6.0-8.3%

BUEN CONTROL 7.5-9.0%

REGULAR CONTROL 9.0-10.0%

POBRE CONTROL >10.0%

Recientemente los expertos han sugerido que los métodos de glicohemoglobina deben reportar valores en relación a la Hemoglobina 1c. Al compararse con un método de referencia A1, el método Eagle mostró una correlación de 98% con una ecuación de:

$Y (\text{valor A1c}) = 0.838 \times (\text{valor Eagle}) - 0.732$

El valor obtenido por el método Eagle puede ser convertido a un valor Calculado A1c al usar esta fórmula. Para un valor directo Calculado A1c, el valor del calibrador puede ser cambiado a = 7.6% en proporción al 10.0% y los resultados reportados serán valores A1c (calculado).

Si los resultados son reportados como A1c Calculado, use entonces como VALORES ESPERADOS:

NORMAL 4.2% - 6.2%

BUEN CONTROL 5.5% - 6.8%

REGULAR CONTROL 6.8% - 7.6%

POBRE CONTROL >7.6%

PROMEDIO DE GLUCOSA SANGUINEA ESTIMADA

En una prueba de estudio realizada por el Dr. D.M. Nathan (5), la prueba de glicohemoglobina mostró tener una correlación lineal con los resultados del promedio de glucosa sanguínea de pacientes que monitoreaban frecuentemente sus niveles de glucosa. Esta relación se describe mejor como una línea recta entre valores de glicohemoglobina A1 en un rango de variación de 6.5 - 13.0% con la ecuación:

$MBG (\text{mg/dL}) = 38.7 \times \text{valor A1} - 185$

Usando esta ecuación, Eagle Diagnostics ha producido una tabla para convertir los resultados del % de glicohemoglobina A1 a un valor estimado MBG. Contacte el Servicio al Cliente de Eagle Diagnostics para obtener una copia de esta tabla de conversión.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

LINEARIDAD:

Este Procedimiento de Glicohemoglobina muestra una linealidad para niveles de glicohemoglobina en el rango de 4.0%-20%. Las muestras de sangre con un total de hemoglobina mayor que 18 g/dL deben diluirse x2 con agua desionizada antes de ensayarse.

PRECISION:

Dentro del Ensayo. La precisión dentro del ensayo fue establecida al ensayarse sangre con niveles normales y elevados de glicohemoglobina veinte veces cada una.

MEDIA VARIAC. ESTD. %CV

Normal 7.8 0.21 2.7

Elevada 13.4 0.23 1.7

De ensayo a ensayo. La precisión de ensayo a ensayo fue establecida al ensayar sangre con niveles normales y elevados de glicohemoglobina diez veces cada una, conducidas por un período de cinco días.

MEDIA VARIAC. ESTD. %CV

Normal 7.6 0.31 4.1

Elevada 13.0 0.60 4.6

ESPECIFICIDAD:

Un estudio comparativo del Procedimiento Eagle de Glicohemoglobina y otro método comercial ampliamente usado mostró una correlación de 0.96.

SENSIBILIDAD:

Este Procedimiento de Glicohemoglobina tiene una sensibilidad de 0.02% de glicohemoglobina por 0.001 unidades de absorción



GENERAL DE APARATOS ANALÍTICOS MÉDICOS SA DE CV



Av. Río Blanco No. 779 C.P. 45130
Fracc. Mirador de San Isidro, Zapopan, Jal.
e-mail: ventas@gaamsa.com
01-800-111-8899 / 01-800-854-1873

Anexo 9. Perfiles de laboratorio: Química seca.

Determinación de glucosa, colesterol, lipoproteínas de alta densidad y triglicéridos

El sistema VITROS DT60 II puede realizar pruebas básicas de química, electrolitos, enzimas, todo el perfil lipídico y las pruebas derivadas. Los amplios rangos permiten hacer menos diluciones y repeticiones. La realización de pruebas en modo de acceso aleatorio del sistema le permite correr las químicas de su elección en cualquier orden.

Conveniencia de las láminas secas. La tecnología de láminas secas minimiza los efectos de las interferencias comunes, lo que permite arrojar resultados precisos y exactos a la vez que produce beneficios en cuanto a costos y conveniencia no hay que hacer mezclas de reactivos líquidos, no hay desperdicio, no se necesitan instalaciones de plomería especiales. El pequeño tamaño de las muestras para cada prueba sólo se necesitan 10 microlitros obtenidos mediante punción del pulpejo o punción venosa. Esto puede ser crucial cuando se trata de pacientes en quienes la punción del pulpejo o la vena son difíciles.

Procedimiento de inicio:

1. Preparar la muestra para su uso.
2. Verificar las conexiones del cordón de alimentación de corriente eléctrica.
3. Encender el analizador DT 60II.
4. Encender el módulo DTSC II.
5. Efectuar el mantenimiento diario (consultar el manual del equipo).
6. Introducir la fecha.
7. Analizar los materiales de control.

Los resultados de los controles se analizan y califican de acuerdo con la política de control de calidad interno para química sanguínea (de acuerdo al control de calidad aprobado por la certificación del laboratorio de análisis clínico de la Facultad de Medicina, Mexicali, de la UABC).

Determinación de glucosa, colesterol, lipoproteínas de alta densidad y triglicéridos.

1. Recoger y manipular la muestra del paciente según los procedimientos de laboratorio estándar.
2. Colocar las puntas desechables en el sujetador.

3. Verificar las pipetas.
4. Insertar las puntas.
5. Insertar y llenar una cubeta de muestra doble (si se requiere ver el manual del operador).
6. Aspirar los fluidos.
7. Retirar el exceso de fluidos.
8. Verificar el volumen de los fluidos.
9. Dispensar la laminilla en el módulo adecuado (ver el manual del operador).
10. Verificar las puntas de las pipetas cuidando que no haya quedado restos de fluidos.
11. Expulsar la o las puntas.

Procedimiento de análisis.

1. Llevar la laminilla a temperatura ambiente.
2. Cargar la laminilla en la estación de carga adecuada.
3. Introducir la identificación del paciente.
4. Dispensar fluidos en la laminilla correspondiente.
5. Expulsar las puntas.
6. Repetir para otras pruebas.
7. Obtener el impreso de resultados del instrumento y registrar en la bitácora correspondiente.

Código	Descripción	Responsable	Tiempo de referencia	Lugar de ubicación	Orden de archivo	Disposición.

Fórmula de Friedewald.

Esta fórmula fue la utilizada para estimar la concentración de LDL-C, utilizando las concentraciones cuantificadas de HDL-C y colesterol total (C) y TG.

$$\text{LDL-C} = \text{C} - (\text{HDL-C} + \text{TG}/5) \text{ mg/dL}$$

Anexo 10. Cuantificación de la PCR-us. EIA



High Sensitivity CRP (hs-CRP) Test System Product Code: 3125-300

1.0 INTRODUCTION

Intended Use: The Quantitative Determination of C-Reactive protein (CRP) concentration in Human Serum, or Plasma by a Microplate Immunoassay

2.0 SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

C-Reactive Protein has traditionally been used to diagnose and monitor acute inflammation. It was named as such for its ability to bind and precipitate the C-polysaccharide of pneumococcus. It is an alpha globulin (MW 110-140 kD). CRP is synthesized in the liver and is normally present as a trace constituent of serum or plasma at levels less than 0.3 mg/dl. It has numerous physiological functions similar to those of immunoglobulins and acts as a host defense mechanism.

CRP is one of the acute phase proteins, the circulatory levels of which rise during general, non-specific response to a wide variety of diseases. These include infections by bacteria, acute phase of rheumatoid arthritis, abdominal abscesses and inflammation of the bile duct. High levels of CRP may also be found in patients with some viral infections, tuberculosis, acute infectious hepatitis, many other necrotic and inflammatory disease, burn and surgical trauma victims. Although the elevated levels of CRP are not indicative of any particular disease, the sudden rise of CRP does indicate an inflammatory process. CRP levels rise in circulation within 24-48 hours following acute tissue damage, reach a peak (upto 1000 times the constitutive level) and decrease with the resolution of trauma or inflammation. The elevated levels of CRP may last for several days before reaching back to normal levels.

Since, elevated levels of CRP are always associated with pathological changes, the CRP assays provide useful information for the diagnosis and therapeutic monitoring of inflammatory processes and associated diseases. Measurement of CRP by high sensitivity CRP assays adds to the predictive value of other cardiac markers like *Myoglobin*, *CK-MB*, *cTnI* and *cTnT* to assess the risk of cardiovascular and peripheral vascular disease. Rifai and Ridker – in a study for CDC – have proposed that medical decision points established by prospective epidemiological studies be used to interpret individual patient CRP results in risk assessment for cardiovascular disease. This is similar to the approach used by the National Cholesterol Education Program for blood lipids that requires that assays for CRP be standardized to provide comparable results. With the advent of sensitive methodologies like Elisa the use of high sensitivity CRP assays is becoming more routine to aid in the determination of inflammation due to cardiovascular trauma. Since CRP is not specific for anything in particular, Monobind hs-CRP assay results should be used in conjunction with other historical, physiological and pathological findings.

In this method, CRP calibrator, patient specimen or control is first added to a streptavidin coated well. Biotinylated monoclonal and enzyme labeled antibodies (directed against distinct and different epitopes of CRP) are added and the reactants mixed. Reaction between the various CRP antibodies and native CRP forms a sandwich complex that binds with the streptavidin coated to the well.

After the completion of the required incubation period, the enzyme-CRP antibody bound conjugate is separated from the unbound enzyme-CRP conjugate by aspiration or decantation. The activity of the enzyme present on the surface of the well is quantitated by reaction with a suitable substrate to produce color.

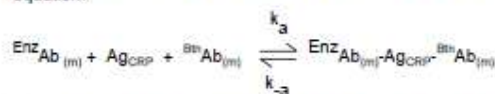
The employment of several serum references of known CRP levels permits construction of a dose response curve of activity and concentration. From comparison to the dose response curve, an unknown specimen's activity can be correlated with CRP concentration.

3.0 PRINCIPLE

Immunoassay (TYPE 3):

The essential reagents required for an immunoassay include high affinity and specificity antibodies (enzyme and immobilized), with different and distinct epitope recognition, in excess, and native antigen. In this procedure, the immobilization takes place during the assay at the surface of a microplate well through the interaction of streptavidin coated on the well and exogenously added biotinylated monoclonal anti-CRP antibody.

Upon mixing monoclonal biotinylated antibody, the enzyme-labeled antibody and a serum containing the native antigen, reaction results between the native antigen and the antibodies, without competition or steric hindrance, to form a soluble sandwich complex. The interaction is illustrated by the following equation:



${}^{\text{Bn}}\text{Ab}_{(m)}$ = Biotinylated Monoclonal Antibody (Excess Quantity)

Ag_{CRP} = Native Antigen (Variable Quantity)

$\text{EnzAb}_{(m)}$ = Enzyme labeled Antibody (Excess Quantity)

$\text{EnzAb}_{(m)}\text{-Ag}_{\text{CRP}}\text{-}{}^{\text{Bn}}\text{Ab}_{(m)}$ = Antigen-Antibodies Sandwich Complex

k_a = Rate Constant of Association

k_{-a} = Rate Constant of Dissociation

Simultaneously, the complex is deposited to the well through the high affinity reaction of streptavidin and biotinylated antibody. This interaction is illustrated below:



$\text{Streptavidin}_{\text{CW}}$ = Streptavidin immobilized on well

Immobilized complex = sandwich complex bound to the well

After equilibrium is attained, the antibody-bound fraction is separated from unbound antigen by decantation or aspiration. The enzyme activity in the antibody-bound fraction is directly proportional to the native antigen concentration. By utilizing several different serum references of known antigen values, a dose response curve can be generated from which the antigen concentration of an unknown can be ascertained.

4.0 REAGENTS

Materials Provided:

A. CRP Calibrators – 1ml/vial - Icons A-F

Six (6) vials of references CRP Antigen at levels of 0(A), 0.5(B), 2.0(C), 5.0(D), 15(E) and 30(F) µg/ml. Store at 2-8°C. A preservative has been added.

Note: The calibrators, human serum based, were calibrated using a reference preparation, which was assayed against the international reference material CRM 470.

- B. CRP Enzyme Reagent – 13ml/vial.**
One (1) vial containing Biotin labeled monoclonal mouse IgG and Anti-CRP HRP in buffer, dye, and preservative. Store at 2-8°C.
- C. Streptavidin Coated Plate – 96 wells - Icon** ↓
One 96-well microplate coated with streptavidin and packaged in an aluminum bag with a drying agent. Store at 2-8°C.
- D. Serum Diluent – 20ml**
One (1) vial of serum diluent containing buffer salts and a dye. Store at 2-8°C.
- E. Wash Solution Concentrate – 20 ml - Icon** ⬆
One (1) vial containing a surfactant in buffered saline. A preservative has been added. Store at 2-8°C.
- F. Substrate A – 7ml/vial - Icon S^A**
One (1) bottle containing tetramethylbenzidine (TMB) in buffer. Store at 2-8°C.
- G. Substrate B – 7ml/vial - Icon S^B**
One (1) bottle containing hydrogen peroxide (H₂O₂) in buffer. Store at 2-8°C.
- H. Stop Solution – 8ml/vial - Icon** Ⓜ
One (1) bottle containing a strong acid (1N HCl). Store at 2-8°C.
- I. Product Instructions.**

Note 1: Do not use reagents beyond the kit expiration date.
Note 2: Avoid extended exposure to heat and light. **Opened reagents are stable for sixty (60) days when stored at 2-8°C. Kit and component stability are identified on the label.**
Note 3: Above reagents are for a single 96-well microplate.

4.1 Required But Not Provided:

1. Pipette capable of delivering 25µl & 50 µL volumes with a precision of better than 1.5%.
2. Dispenser(s) for repetitive deliveries of 0.100ml and 0.350ml volumes with a precision of better than 1.5%.
3. Microplate washers or a squeeze bottle (optional).
4. Microplate Reader with 450nm and 620nm wavelength absorbance capability.
5. Absorbent Paper for blotting the microplate wells.
6. Plastic wrap or microplate cover for incubation steps.
7. Vacuum aspirator (optional) for wash steps.
8. Timer.
9. Quality control materials.

5.0 PRECAUTIONS

For In Vitro Diagnostic Use Not for Internal or External Use in Humans or Animals

All products that contain human serum have been found to be non-reactive for Hepatitis B Surface Antigen, HIV 1&2 and HCV Antibodies by FDA licensed reagents. Since no known test can offer complete assurance that infectious agents are absent, all human serum products should be handled as potentially hazardous and capable of transmitting disease. Good laboratory procedures for handling blood products can be found in the Center for Disease Control / National Institute of Health, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2nd Edition, 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

Safe Disposal of kit components must be according to local regulatory and statutory requirement.

6.0 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The specimens shall be blood, serum or plasma in type, and the usual precautions in the collection of venipuncture samples should be observed. For accurate comparison to established normal values, a fasting morning serum sample should be obtained. The blood should be collected in a plain redtop venipuncture tube without additives or anti-coagulants (for serum) or evacuated tube(s) containing EDTA or heparin. Allow the blood to clot for serum samples. Centrifuge the specimen to separate the serum or plasma from the cells.

Samples may be refrigerated at 2-8°C for a maximum period of five (5) days. If the specimen(s) cannot be assayed within this

time, the sample(s) may be stored at temperatures of -20°C for up to 30 days. Avoid use of contaminated devices. Avoid repetitive freezing and thawing. When assayed in duplicate, 0.050ml of the diluted specimen is required.

7.0 QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at levels in the low, normal and elevated range for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

8.0 REAGENT PREPARATION

1. **Serum Diluent**
Dilute the serum diluent to 200ml in a suitable container with distilled or deionized water. Store at 2-8°C.
2. **Wash Buffer**
Dilute contents of wash solution to 1000 ml with distilled or deionized water in a suitable storage container. Store at 2-30°C for up to 60 days.
3. **Working Substrate Solution**
Pour the contents of the amber vial labeled Solution 'A' into the clear vial labeled Solution 'B'. Place the yellow cap on the clear vial for easy identification. Mix and label accordingly. Store at 2 - 8°C.
4. **Patient Sample Dilution (1/200)**
Dispense 0.010ml (10µl) of each patient specimen into 2ml of serum diluent. Cover and vortex or mix thoroughly by inversion. Store at 2-8°C for up to forty-eight (48) hours.

Note 1: Do not use the working substrate if it looks blue.
Note 2: Do not use reagents that are contaminated or have bacteria growth.

Note: THE CALIBRATORS ARE READY TO USE.

9.0 TEST PROCEDURE

*Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum references and controls to room temperature (20 - 27 °C).
Test Procedure should be performed by a skilled individual or trained professional*

1. Format the microplates' wells for each serum reference, control and patient specimen to be assayed in duplicate. **Replace any unused microwell strips back into the aluminum bag, seal and store at 2-8°C.**
2. Pipette 0.025 ml (25µl) of the appropriate serum reference, diluted control or specimen (see Patient Sample Preparation above) into the assigned wells.
3. Add 0.100 ml (100µl) of the CRP Enzyme Reagent to each well. **It is very important to dispense all reagents close to the bottom of the coated well.**
Note: Use a multichannel pipet to quickly dispense the Enzyme Reagent to avoid drift if the dispensing is to take more than a few minutes.
4. Swirl the microplate gently for 20-30 seconds to mix and cover.
5. Incubate 15 minutes at room temperature.
6. Discard the contents of the microplate by decantation or aspiration. If decanting, tap and blot the plate dry with absorbent paper.
7. Add 350µl of wash buffer (see Reagent Preparation Section), decant (tap and blot) or aspirate. Repeat two (2) additional times for a total of three (3) washes. **An automatic or manual plate washer can be used. Follow the manufacturer's instruction for proper usage. If a squeeze bottle is employed, fill each well by depressing the container (avoiding air bubbles) to dispense the wash. Decant the wash and repeat two (2) additional times.**
8. Add 0.100 ml (100µl) of working substrate solution to all wells (see Reagent Preparation Section).
DO NOT SHAKE THE PLATE AFTER SUBSTRATE ADDITION
9. Incubate at room temperature for fifteen (15) minutes.

10. Add 0.050ml (50µl) of stop solution to each well and mix gently for 15-20 seconds.
11. Read the absorbance in each well at 450nm (using a reference wavelength of 620-630nm to minimize well imperfections) in a microplate reader. **The results should be read within thirty (30) minutes of adding the stop solution.**

Note: Always add reagents in the same order to minimize reaction time differences between wells.

10.0 CALCULATION OF RESULTS

A dose response curve is used to ascertain the concentration of C-reactive protein in unknown specimens.

1. Record the absorbance obtained from the printout of the microplate reader as outlined in Example 1.
2. Plot the absorbance for each duplicate serum reference versus the corresponding CRP concentration in µg/ml on linear graph paper (do not average the duplicates of the serum references before plotting).
3. Draw the best-fit curve through the plotted points.
4. To determine the concentration of CRP for an unknown, locate the average absorbance of the duplicates for each unknown on the vertical axis of the graph, find the intersecting point on the curve, and read the concentration (in µg/ml) from the horizontal axis of the graph (the duplicates of the unknown may be averaged as indicated). In the following example, the average absorbance (0.958) intersects the dose response curve at (5.63µg/ml)* CRP concentration (See Figure 1).

Note 1: If the sample values need to be represented in mg% divide the value obtained (in Step#4) by 10 to convert the values in mg/dl (or mg %). (For Example the value for Patient #2 (see below) would be 21.9/10=2.19 mg/dl)

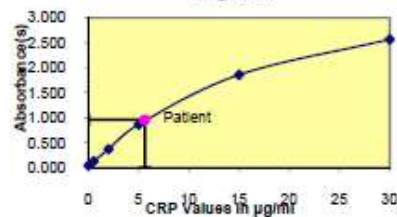
Note 2: Computer data reduction software designed for ELISA assays may also be used for the data reduction. **If such software is utilized, the validation of the software should be ascertained.**

EXAMPLE 1

I.D.	Well	Abs	Mean Abs (B)	Conc (µg/ml)
Cal A	A1	0.045	0.045	0
	B1	0.046		
Cal B	C1	0.129	0.126	0.5
	D1	0.124		
Cal C	E1	0.358	0.366	2.0
	F1	0.373		
Cal D	G1	0.863	0.863	5.0
	H1	0.864		
Cal E	A2	1.900	1.856	15.0
	B2	1.812		
Cal F	C2	2.611	2.564	30.0
	D2	2.517		
Control	E2	0.966	0.959	5.63
	F2	0.952		
Patient 1	G2	2.162	2.115	19.8
	H2	2.068		
Patient 2	A3	2.218	2.201	21.9
	B3	2.206		

*The data presented in Example 1 and Figure 1 is for illustration only and should not be used in lieu of a dose response curve prepared with each assay.

Figure 1



11.0 Q.C. PARAMETERS

In order for the assay results to be considered valid the following criteria should be met:

1. Maximum Absorbance (Calibrator 'F') = >1.3
2. Maximum Absorbance (Calibrator 'A') = ≤ 0.1

12.0 RISK ANALYSIS

The MSDS and Risk Analysis Form for this product is available on request from Monobind Inc.

12.1 Assay Performance

1. It is important that the time of reaction in each well is held constant to achieve reproducible results.
2. Pipetting of samples should not extend beyond ten (10) minutes to avoid assay drift.
3. Highly lipemic, hemolyzed or grossly contaminated specimen(s) should not be used.
4. If more than one (1) plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve.
5. The addition of substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the stop solution. Therefore, the substrate and stop solution should be added in the same sequence to eliminate any time-deviation during reaction.
6. Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
7. Failure to remove adhering solution adequately in the aspiration or decantation wash step(s) may result in poor replication and spurious results.
8. Use components from the same lot. No intermixing of reagents from different batches.
9. Patient specimens with CRP concentrations above 30µg/ml may be further diluted (for example 1/50) with serum diluent and re-assayed. The sample concentration is obtained by multiplying the result by the dilution factor (50).
10. Accurate and precise pipetting, as well as following the exact time and temperature requirements prescribed are essential. Any deviation from Monobind's IFU may yield inaccurate results.
11. All applicable national standards, regulations and laws, including, but not limited to, good laboratory procedures, must be strictly followed to ensure compliance and proper device usage.
12. It is important to calibrate all the equipment e.g. Pipettes, Readers, Washers and/or the automated instruments used with this device, and to perform routine preventative maintenance.
13. Risk Analysis- as required by CE Mark IVD Directive 98/79/EC - for this and other devices, made by Monobind, can be requested via email from Monobind@monobind.com.

12.2 Interpretation

1. **Measurements and interpretation of results must be performed by a skilled individual or trained professional.**
2. Laboratory results alone are only one aspect for determining patient care and should not be the sole basis for therapy, particularly if the results conflict with other determinants.
3. For valid test results, adequate controls and other parameters must be within the listed ranges and assay requirements.
4. If test kits are altered, such as by mixing parts of different kits, which could produce false test results, or if results are incorrectly interpreted, **Monobind shall have no liability.**
5. If computer controlled data reduction is used to interpret the results of the test, it is imperative that the predicted values for the calibrators fall within 10% of the assigned concentrations.

13.0 EXPECTED RANGES OF VALUES

Based on a study of an apparent normal population and established references a normal range for hsCRP AccuBind™ ELISA Microplate Test System was established in Table 1.

Risk Level	CRP Concentration
Low Risk	< 1.0 µg/ml
Normal	1 – 3 µg/ml
High Risk	> 3.0 µg/ml

It is important to keep in mind that establishment of a range of values which can be expected to be found by a given method for a population of "normal"-persons is dependent upon a multiplicity of factors: the specificity of the method, the population tested and the precision of the method in the hands of the analyst. For these reasons each laboratory should depend upon the range of expected values established by the Manufacturer only until an in-house range can be determined by the analysts using the method with a population indigenous to the area in which the laboratory is located.

14.0 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

14.1 Precision

The within and between assay precision of the hsCRP Microplate Elisa Procedure were determined by analyses on three different levels of control sera. The number, mean value, standard deviation and coefficient of variation for each of these control sera are presented in Table 3 and Table 4.

Sample	N	X	σ	C.V.
Level 1	20	1.3	0.09	6.9%
Level 2	20	5.9	0.52	8.8%
Level 3	20	13.6	1.06	7.8%

Sample	N	X	σ	C.V.
Level 1	10	1.6	0.13	8.2%
Level 2	10	6.4	0.43	6.7%
Level 3	10	12.1	1.09	9.0%

*As measured in ten experiments in duplicate.

14.2 Sensitivity

The hsCRP Microplate Elisa Procedure has a sensitivity of 0.014 µg/ml. The sensitivity (detection limit) was ascertained by determining the variability of the 0 µg/ml calibrator and using 2σ (95% certainty) statistic to calculate the minimum dose.

14.3 Accuracy

The Monobind AccuBind™ hsCRP Elisa was compared against a predicate automated hsCRP method. Biological specimens (n=167) from population (symptomatic and asymptomatic) were used. The values ranged from 0 – 22 µg/ml. The correlation is presented in Table 4.

Method	Mean (x)	Least Square Regression Analysis	Correlation Coefficient
This Method (x)	3.70	$y = 0.0410 + 1.052(x)$	0.976
Reference (y)	3.94		

14.4 Specificity

The cross-reactivity of the hsCRP Microplate Elisa Procedure to selected substances was evaluated by adding the interfering substance to a pooled serum matrix at various concentrations, the cross-reactivity was calculated by deriving a ratio between dose of interfering substance to dose of CRP needed to produce the same absorbance.

Substance	Cross Reactivity
Bilirubin	ND
Lipids	ND
Triglycerides	ND
Human IgG	ND

14.5 High Dose Hook Effect

The test will not be affected by CRP concentrations up to 5000 µg/ml in serum or plasma. However, samples expected to be over 30 µg/ml should be further diluted in working serum diluent.

15.0 REFERENCES

1. NW Tietz, *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd Ed, WB Saunders Company, Philadelphia, PA (1995).
2. Centers for Disease Control/ NIH manual, *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (1984).
3. Ridker PM, et al, "Inflammation, Pravastatin and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels", *Circulation*, **98**, 839-844 (1998).
4. Ridker, PM, Glynn, RJ and Hennekens, CH, "C-Reactive Protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining the risk of first myocardial infarction", *Circulation*, **97**, 2007-2011 (1998).
5. Macy EM, Hayes TE, and Tracy RP, "Variability in the measurement of CRP in healthy subjects; implications for reference intervals and epidemiological implications", *Clin Chem*, **43**, 52-58 (1997).
6. Kushner I and Rzewnicki DL, "The acute phase response: General Aspects", *Bailliere's Clinical Rheumatology*, **8**, 513-532 (1994).
7. Kindmark, CO, "The concentrations of C-reactive protein in sera from healthy individuals", *Scandinavian J Clin Lab Invest*, **29**, 407-411 (1972).
8. Yudkin, JS, "C-reactive protein in healthy subjects. Association with obesity, insulin resistance and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue", *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*, **19**, 972-978 (1999).
9. Ridker PM, et al, "Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men", *New Eng J Med*, **336**, 973-979 (1997).
10. Kimberly MM, Vesper HW, Caudill SP, Cooper GR, Nader R, Dati F and Myers GL, "Standardization of Immunoassays for Measurement of High-Sensitivity C-reactive Protein. Phase 1: Evaluation of Secondary Reference Materials", *Clin Chem*, **49**, 611-616 (2003).

Revision: 3 Date: 060712 DCO: 0639

	Size	96(A)	192(B)
Reagent (µl)	A)	1ml set	1ml set
	B)	1 (13ml)	2 (13ml)
	C)	1 plate	2 plates
	D)	1 (20ml)	1 (20ml)
	E)	1 (7ml)	2 (7ml)
	F)	1 (7ml)	2 (7ml)
	G)	1 (8ml)	2 (8ml)

For Orders and Inquiries, please contact

 **Monobind Inc.**
100 North Pointe Drive
Lake Forest, CA 92630 USA

Tel: +1 949.951.2665 Email: info@monobind.com
Fax: +1 949.951.3539 Web: www.monobind.com

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.



EC REP CEpartner4U, Esdoornlaan 13,
3951DB Maarn, The Netherlands
www.cepartner4u.eu