



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2

Tesis para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Ortiz Jiménez Anahí

Director de Tesis: **Dra. Diana Patricia Portales Pérez**

Codirectora: **Dra. Mariana Haydee García Hernández**

San Luis Potosí, S.L.P.

Fecha: Agosto, 2026



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



UASLP-Sistema de Bibliotecas
Repositorio Institucional Tesis digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2 © 2026 by Anahí Ortiz Jiménez is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0

International. To view a copy of this license, visit
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Este proyecto se realizó en la Unidad de Investigación Biomédica Delegación Zacatecas adscrito al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en el periodo comprendido entre agosto 2025 a mayo de 2026, bajo la dirección de la Dra. Diana Patricia Portales Pérez y la Dra. Mariana Haydee García Hernández.

El programa de Maestría en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONAHCYT, registro 003382. Número de la beca otorgada por CONAHCYT: 4029660. Número de CVU: 2045381

Los datos del trabajo titulado *Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2* se encuentran bajo el resguardo de la Facultad de Ciencias Químicas y pertenecen a la Universidad Autónoma de SanLuis Potosí.

Solicitud de Registro de Tesis Maestría

San Luis Potosí SLP a 10/ 24/ 2026

Comité Académico

En atención a: Coordinador/a del Posgrado

Por este conducto solicito a Usted se lleve a cabo el registro de tema de tesis de Maestría, el cual quedo definido de la siguiente manera: Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2.

que desarrollará el/la estudiante: Anahí Ortiz Jiménez

bajo la dirección y/o Co-dirección de: Dra. Diana Patricia Portales Pérez y Dra. Mariana Haydee García Hernández, respectivamente

Asimismo, le comunico que el proyecto en el cual trabajará el alumno involucrará el manejo de animales de experimentación, estudios con seres humanos o muestras derivadas de los mismos, el manejo y/o generación de organismos genéticamente modificados y requiere de aval de Comité de Ética e investigación de la FCQ.

(Complete la opción que aplique en su caso):

(X) Sí debido a que: se involucrará el uso de muestras derivadas de seres humanos

() No

() No Aplica

Sin otro particular, quedo de Usted.

A T E N T A M E N T E

Anahí Ortiz Jiménez

Nombre y firma del estudiante

Dra. Diana Patricia Portales Pérez

Nombre y firma del/la Director/a de Tesis



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

"Dictamen de Reaprobación"

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA ZACATECAS (UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA)
Comité de Ética en Investigación **33018**

Miércoles, 28 de enero de 2026

CONBIOETICA 32 CEI 001 2017082

DOCTOR (A) MARIANA HAYDEE GARCÍA HERNÁNDEZ

P R E S E N T E

En atención a su solicitud de evaluación de documentos del protocolo de investigación con título: **Evaluación de los componentes del sistema renina-angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2**, y número de registro institucional **R-2024-3301-033**; me permito informarle que el Comité de Ética en Investigación revisó y aprobó la solicitud de reaprobación del **28 de Enero de 2026 al 28 de Enero de 2027**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina en leucocitos de pacientes con DMT2

Tesis que para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Ortiz Jiménez Anahí

SINODALES:

Presidente:	Dr. Juan Manuel Vargas Morales
Secretario:	Dra. Eneida Turiján Espinoza
Vocal:	Dra. Diana Patricia Portales Pérez
Vocal:	Dra. Mariana Haydee García Hernández
Vocal:	Dr. Juan Diego Cortés García

San Luis Potosí, S.L.P.

Fecha: Agosto de 2026

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO

Dra. Diana Patricia Portales Pérez. Directora de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Mariana Haydee García Hernández. Codirectora de tesis. Adscrita a la Unidad DE Investigación Biomédica Delegación Zacatecas del Instituto Mexicano Del Seguro Social, IMSS.

Dr. Juan Manuel Vargas Morales: Sinodal de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Eneida Turiján Espinoza: Sinodal de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.



Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a 07/ 07 /2026

En la ciudad de San Luis Potosí el día 07 del mes de julio del año 2026. El que suscribe Anahí Ortiz Jiménez Alumna del programa de posgrado en Ciencias Farmacobiológicas adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de la Dra. Diana Patricia Portales Pérez y la Dra. Mariana Haydee García Hernández cede los derechos del trabajo titulado Evaluación de los componentes del Sistema Renina Angiotensina en leucocitos de pacientes con DMT2 a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección dportale@uaslp.mx, mariana.haydee.gh@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Anahí Ortiz Jiménez

Nombre y firma del alumno



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas
Programa de Maestría

Formato M28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a 08/11/2026

L.B. María Zita Acosta Nava
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada Evaluación de los componentes del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2 presentada por el autor Anahí Ortiz Jiménez. La tesis es requisito para obtener el grado de Maestría en el Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas. El análisis reveló un porcentaje de similitud de Porcentaje de Similitud del 11% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Dra. Claudia Escudero Lourdes
Coordinador Académico del Posgrado
en Ciencias Farmacobiológicas

Agradecimientos

Esta tesis significa no solo la culminación de un proyecto de investigación, sino también de una importante etapa en mi vida académica, profesional y personal; por lo cual, agradezco a cada persona e institución que hizo esto posible.

Agradezco a mis directoras de tesis, la Dra. Diana P. Portales y la Dra. Mariana Haydee, por su guía, apoyo y por compartir su conocimiento en el desarrollo de esta investigación. A mis sinodales, Dra. Eneida y Dr. Juan Manuel por el tiempo, atención y dedicación que contribuyeron al proyecto.

Agradezco al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la UASLP, por brindarme las herramientas necesarias para el inicio de mi vida y desarrollo profesional en la investigación. A la Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas por brindarme las instalaciones, equipos y ambiente necesarios para llevar a cabo la fase experimental.

Agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada durante mis estudios.

A mi familia y amigos por su apoyo, compañía y los momentos invaluables que me dieron fortaleza y motivación cada que no sabía cómo seguir adelante.

Gracias.

Resumen

Introducción. La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) presenta distintas alteraciones metabólicas que favorecen el desarrollo de hiperglucemia. El estado de control glucémico representa uno de los determinantes de la progresión de la enfermedad, ya que la hiperglucemia favorece la activación de vías relacionadas con el daño celular. Entre las células involucradas se encuentran los monocitos clásicos (CD14+ CD16-), que expresan localmente la enzima convertidora de angiotensina (ACE), cuya activación conduce a la generación de angiotensina II (Ang II), la cual ejerce una respuesta inflamatoria y a su vez, contribuye al estado de inflamación crónica de bajo grado característico de la DMT2, que, en conjunto con otras alteraciones, favorece el desarrollo y progresión de la enfermedad.

Objetivo. Evaluar la expresión y la actividad de la ACE en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2 clasificados según su control glucémico.

Metodología. Se realizó un estudio observacional, analítico, comparativo y de corte transversal con tres grupos: individuos sanos y pacientes con DMT2 clasificados de acuerdo a su control glucémico. Se evaluó el porcentaje de monocitos clásicos ACE+ por FACS. Posteriormente, los monocitos clásicos se aislaron por separación inmunomagnética y se evaluó la actividad de ACE mediante la incubación con angiotensina I (Ang I), cuantificando la producción de Ang II mediante ELISA. Se determinó la expresión génica de ACE, AT1R y MasR mediante RT-qPCR.

Resultados. Los pacientes con DMT2 mostraron un mayor porcentaje de monocitos clásicos ACE+ ($p=0.0306$), además de un incremento de la actividad de la enzima, evidenciado por una mayor producción de Ang II, principalmente en los pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado ($p=0.0416$). Por otro lado, los pacientes con DMT2 presentaron una disminución en la expresión génica relativa de ACE ($p=0.0217$) y un incremento en la expresión de MasR ($p=0.0245$); mientras que la expresión de AT1R no mostró diferencias entre los grupos.

Conclusión. La DMT2 se asocia con un incremento en la participación del eje proinflamatorio ACE/Ang II, así como la activación de un mecanismo compensatorio caracterizado por el incremento de MasR a nivel génico.

Palabras clave: Diabetes Mellitus Tipo 2, Enzima Convertidora de Angiotensina, Inflamación, Hiperglucemia.

Abstract

Introduction. Type 2 Diabetes Mellitus is characterized by metabolic alterations, that promoted the development of chronic hyperglycemia. Glycemic control is one of the main determinants of disease progression, as prolonged hyperglycemia promotes the activation of signaling pathways associated with cellular damage and inflammation. Among the immune cells involved in these processes are classical monocytes (CD14++ CD16-), which play a key role due to their migratory capacity and early participation in the inflammatory response. These cells locally express Angiotensin-Converting Enzyme (ACE), which catalyzes the conversion of Ang I into Ang II. Through activation of its receptor promote a proinflammatory response that contribute the chronic low grade inflammatory state characteristic of T2D, together with other metabolic alterations, favor to disease development and progression.

Objective. To evaluate the expression and activity of ACE in classical monocytes (CD14++, CD16-) from healthy controls and patients with T2D with different levels of glycemic control.

Methods. A comparative study was conducted including three groups: healthy individuals and patients with T2D classified according to adequate or inadequate glycemic control. The percentage of ACE+ classical monocytes was evaluated by flow cytometry. Classical monocytes were isolated using a Miltenyi Biotec Kit, by immunomagnetic separation based in negative selection and ACE functional activity was assessed by culturing classical monocytes with the Ang I peptide and subsequently quantifying Ang II production by ELISA. In addition, the relative gene expression of ACE, AT1R and MasR was determined by RT-qPCR-

Results. Patients with T2D exhibited increased ACE protein expression, as well as increased ACE activity, particularly in those with inadequate glycemic control. In contrast, patients with T2D showed a significant decrease in ACE gene expression and an increase MasR gene expression.

Conclusion. T2DM is associated with increased to the participation of the proinflammatory ACE/Ang II axis, as well as the activation of a compensatory mechanism characterized by increased MasR gene expression.

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, Angiotensin-Converting Enzyme, Inflammation, Hyperglycemia.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
Generalidades de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2)	2
Fisiopatología de la DMT2	3
Hiperglucemia crónica en la progresión de la DMT2	4
Inflamación crónica de bajo grado y su papel en la progresión de la DMT2	5
Participación de las subpoblaciones de monocitos en la respuesta inflamatoria	7
Deterioro de las células beta del páncreas mediado por inflamación	9
Sistema Renina Angiotensina y su acción inmunomoduladora	10
JUSTIFICACIÓN	14
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
HIPOTESIS	16
OBJETIVOS	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
Diseño del estudio	17
Participantes del estudio	17
Obtención de la muestra	18
Exámenes de laboratorio	18
Evaluación del porcentaje de monocitos clásicos ACE+	1
Obtención de células mononucleares (PBMCs) de sangre venosa periférica ..	21
Purificación de monocitos clásicos	21
Evaluación de la actividad de la ACE en monocitos clásicos por medio de cultivo celular con Ang I	22

Evaluación de la expresión génica relativa de los principales componentes del RAS	22
Análisis estadístico	24
RESULTADOS.....	25
Características bioquímicas y antropométricas de los individuos de estudio....	25
Estrategia de gate para la identificación de las distintas subpoblaciones de monocitos.	27
Distribución porcentual de la subpoblación monocítica clásica (CD14+CD16-) en pacientes con DMT2, con control glucémico adecuado y control glucémico inadecuado e individuos control.....	29
Porcentaje de monocitos clásicos ACE+ en pacientes con DMT2 con buen control glucémico, pobre control glucémico e individuos control.	30
Intensidad Media de Fluorescencia de ACE de monocitos clásicos de individuos control y sujetos con DMT2.	31
Actividad enzimática de ACE de monocitos clásicos determinada mediante la producción de ANG II.	32
Expresión relativa de los genes ACE, AT1R y MasR en monocitos clásicos de sujetos con DMT2 con distinto control glucémico e individuos control.	33
Expresión génica relativa de ACE	34
Expresión génica de AT1R	35
Expresión génica de MasR	36
Correlación del porcentaje de monocitos clásicos ACE+ y de la expresión génica relativa de ACE, AT1R y MasR con parámetros bioquímicos y antropométricos.	37
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIÓN	44
1. BIBLIOGRAFÍA	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Índices metabólicos y antropométricos para evaluar el estado metabólico de los individuos de estudio.	19
Tabla 2. Secuencias de los primers utilizados para el análisis de expresión génica mediante RT-qPCR.	23
Tabla 3. Características bioquímicas y antropométricas de los individuos de los grupos de estudio.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cambios metabólicos ocurridos durante el desarrollo de DMT2. Se presenta la relación entre la sensibilidad a la insulina y la secreción de esta como mecanismo compensatorio. Conforme disminuye la sensibilidad a la insulina, las células β del páncreas aumentan la secreción de dicha hormona para mantener un estado normoglucémico (NGT, punto A al B). Sin embargo, la actividad compensatoria resulta insuficiente debido al deterioro de dichas células; desarrollando, inicialmente, Intolerancia a la Glucosa (IGT, punto C) y posteriormente, con el progreso de ello, Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2, punto D). Adaptado de: Harrison. Principios de Medicina Interna 19ª edición.	4
Figura 2. Principales alteraciones metabólicas e inmunológicas presentes en la fisiopatología de la Diabetes Mellitus Tipo 2. La DMT2 se caracteriza por grados variables de resistencia a la insulina, alteración en la secreción de insulina, aumento en la producción hepática de glucosa y un estado de inflamación crónica de bajo grado. Tales alteraciones, en conjunto, contribuyen al desarrollo y mantenimiento de la hiperglucemia crónica, favoreciendo el desarrollo y progresión de la enfermedad.	6
Figura 3. Clasificación de las subpoblaciones de los monocitos circulantes. Los monocitos circulantes se clasifican de acuerdo con la expresión de CD14 y CD16 en monocitos clásicos (CD14++CD16-), intermedios (CD14++CD16+) y no clásicos (CD14+CD16++). Los monocitos clásicos representan la subpoblación predominante y se caracterizan por una alta expresión de CCR2, lo que favorece	

su reclutamiento hacia sitios de inflamación, donde pueden diferenciarse en células efectoras según las señales del microambiente tisular. En contraste, los monocitos no clásicos expresan altos niveles de CX3CR1 y participan principalmente en la vigilancia endotelial. 9

Figura 4. Principales ejes del Sistema Renina Angiotensina (RAS). El decapeptido Angiotensina I (Ang I) es hidrolizado por la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE), a su forma activa, la Angiotensina II (Ang II), el cual, a través de sus receptores como el Receptor de Angiotensina Tipo 1 (AT1R), activa vías de señalización como MAPK, NADH/NADPH, ERK 1/2, entre otras, que promueven inflamación, estrés oxidativo, proliferación celular, etc; mientras que el Receptor de Angiotensina Tipo 2 (AT2R) promueve una respuesta contraria a los efectos del AT1R, principalmente por la activación de fosfatasas como SHP-1, PP2A, MKP-1 y la inhibición de NF- κ B. La Ang II puede ser hidrolizada por la Enzima Convertidora de Angiotensina II (ACE II), que la convierte a Angiotensina I-VII (Ang I-VII), la cual actúa a través del Receptor Mas (MasR), activando mecanismos protectores de vasodilatación, antioxidantes y antiinflamatorios. 12

Figura 5. Estrategia de gate para la identificación de los monocitos clásicos y la evaluación en la expresión de ACE. a) Selección de células singletes, basado en parámetros de FSC-H y FSC-A, para llevar a cabo la exclusión de agregados celulares. b) Delimitación de la población de monocitos, basado en parámetros de tamaño y complejidad, FSC-A y SSC-A, correspondientemente. c) Identificación de la población de monocitos clásicos por la expresión de marcadores CD14 y CD16, utilizando los anticuerpos anti CD14 conjugado con APC y anti CD16 conjugado con PE-Cy7. d) Evaluación de la expresión de ACE por medio de un histograma de fluorescencia, a partir del cual se determinó el porcentaje de monocitos clásicos ACE+ y la Intensidad Media de Fluorescencia (IMF), utilizando anti ACE conjugado con PE. 28

Figura 6. Comparación del porcentaje de monocitos clásicos CD14+ CD16-. a) Distribución del porcentaje de monocitos clásicos en el grupo control y el grupo de sujetos con DMT2. b) Porcentaje de monocitos clásicos en sujetos control, pacientes con DMT2 con Control Glucémico Adecuado (DMT2 CGA) y pacientes

con DMT2 con Control Glucémico Inadecuado (DMT2 CGI). Los datos se presentan como media $\pm$ DE, mostrando diferencia significativa en la cantidad porcentual de la subpoblación correspondiente a monocitos clásicos entre el grupo control y el grupo de pacientes con DMT2 ($p < 0.0073$). Se observa una disminución significativa entre el grupo control y el grupo de sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado ($p < 0.0156$); esto al realizar una prueba estadística de anova de una vía, tomando como valor significativo $p < 0.05$ 29

Figura 7. Porcentaje de monocitos CD14+ CD16- ACE+ de individuos control y pacientes con DMT2. a) Se muestra la comparación entre la expresión de ACE en los grupos de individuos control, sujetos con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2 CGA) y sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2 CGI). b) Comparación de la expresión de ACE en individuos control y sujetos con DMT2. Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney; tomando como valor significativo $p < 0.05$ 31

Figura 8. Intensidad Media de Fluorescencia de ACE en monocitos clásicos de individuos control y pacientes con DMT2. a) Comparación de la IMF de ACE en individuos control y sujetos con DMT2. ($p = 0.0699$) b) Se muestra la comparación entre la IMF de ACE en los grupos de individuos control, sujetos con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2 CGA) y sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2 CGI) ($p = 0.1875$). Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para las comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. 32

Figura 9. Actividad de ACE determinada por la conversión de Ang I a Ang II en cultivo de monocitos clásicos. Cultivo de monocitos clásicos con Ang I como sustrato y Ang II como producto, cuantificado por ELISA. a) Comparación de la producción de Ang II de la ACE presente en monocitos clásicos

de pacientes con DMT2 en comparación con individuos control, con un incremento en el grupo de DMT2. b) Se muestra la comparación entre la concentración de Ang II producida por la ACE presente en los monocitos clásicos de pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado, pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado e individuos control. Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para las comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney; tomando como valor significativo $p < 0.05$ 33

Figura 10. Expresión génica relativa de ACE en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$ 35

Figura 11. Expresión génica relativa de AT1R en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$ 36

Figura 12. Expresión génica relativa de MASR en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$ 37

Figura 13. Matriz de correlación de Spearman entre parámetros metabólicos y antropométricos con la expresión y actividad de ACE de los participantes del estudio. Se evaluó la asociación entre el porcentaje de monocitos clásicos ACE+, la expresión génica relativa de ACE, AT1R, MasR, así como las concentraciones de Ang II producidas y parámetros antropométricos y metabólicos: Glucosa en ayuno (GAA), Insulina sérica (INS), lipoproteína de alta densidad (HDL), hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c), Índice de Masa Corporal (IMC), Índice Cintura Cadera (ICC), Homeostatic Model Assesment of insulin Resistance (HOMA-IR), Homeostatic Model Assesment of β -cell function (HOMA- β), Índice Triglicéridos-glucosa (TyG) y Metabolic Score for Insuline Resistance (METS-IR). Cada celda de la matriz, corresponde y muestra el coeficiente de correlación entre dos variables. Los tonos azules inidcan correlaciones positivas y el color rojo indica asociación negativa, mientras que la intensidad del color nos indica la magnitud de la correlación. 38

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2), es una enfermedad metabólica caracterizada por presentar alteraciones como resistencia a la insulina, alteración en la secreción de esta hormona y aumento en la producción hepática de glucosa. Estas alteraciones favorecen el desarrollo de hiperglucemia crónica, uno de los principales determinantes del desarrollo y la progresión de la enfermedad, ya que la exposición prolongada a concentraciones elevadas de glucosa, favorece la activación de vías relacionadas a estrés oxidativo, formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) y activación de vías proinflamatorias (Marcovecchio et al., 2011a).

Entre las células que participan en este proceso, se encuentran los monocitos, los cuales se clasifican en tres subpoblaciones diferenciadas por la expresión de los marcadores CD14 y CD16: monocitos clásicos (CD14++ CD16-), monocitos intermedios (CD14+ CD16+) y monocitos no clásicos (CD14+ CD16++) (Yang et al., 2014a). De estas subpoblaciones, los monocitos clásicos son de particular interés ya que representan alrededor del 80% del total de monocitos circulantes, constituyen el primer estadio de maduración y presentan alta capacidad de migración hacia tejidos o sitios dañados, donde pueden llevar a cabo su diferenciación a macrófagos tipo 1 (Yang et al., 2014b).

Los monocitos clásicos expresan localmente a la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE), cuya enzima, lleva a cabo la conversión del péptido Angiotensina I (Ang I) a su forma activa, la Angiotensina II (Ang II), conformando el eje ACE/Ang II/AT1R, uno de los principales ejes efectores del Sistema Renina-Angiotensina (RAS) que da lugar a la activación de distintas vías de señalización, que entre ellas, las involucradas en una respuesta proinflamatoria (Trojanowicz et al., 2014). Así mismo, la activación del eje ACE/Ang II/AT1R puede verse relacionada de manera bidireccional con el estado de inflamación sistémico de bajo grado que es característico de la DMT2, el cual, puede promover resistencia a la insulina mediante la inhibición de la señalización de su receptor (Tilg & Moschen, 2008); además, de la destrucción progresiva de las células beta del páncreas (Guzmán-Flores & López-Briones, 2012). En conjunto con las alteraciones

metabólicas previamente descritas, estos mecanismos contribuyen tanto al desarrollo como a la progresión de la enfermedad.

Diversas investigaciones han demostrado que la activación del eje ACE/Ang II/AT1R se encuentra incrementado en pacientes con DMT2, sin embargo, la mayor parte de la evidencia disponible proviene de estudios realizados a nivel sistémico, mientras que existe información limitada acerca del comportamiento del RAS en poblaciones específicas de células inmunitarias y la influencia del estado de control glucémico. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluó la expresión y actividad de ACE en monocitos clásicos de individuos con DMT2 con distinto control glucémico, esto con el objetivo de aportar conocimiento que permita comprender el papel de dicha enzima en las alteraciones inmunometabólicas asociadas a DMT2 y su control glucémico.

ANTECEDENTES

Generalidades de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2)

La Diabetes Mellitus Tipo 2 constituye el tipo de diabetes más prevalente a nivel mundial. Actualmente, se estima que más de 580 millones de personas de entre 20 y 79 años padecen algún tipo de diabetes, siendo más del 90 % de estos casos correspondientes a DMT2 (International Diabetes Federation, 2025). Estas cifras consolidan a la DMT2 como un importante problema de salud pública, debido a su impacto en la morbilidad, la mortalidad, la calidad de vida de los pacientes y la creciente carga sobre los sistemas de salud a nivel mundial.

La DMT2 ha sido definida como un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos caracterizados por grados variables de resistencia a la insulina, alteraciones en la secreción de esta hormona y un aumento en la producción hepática de glucosa, lo que conduce al desarrollo de hiperglucemia crónica (**Figura 2**). Estas alteraciones metabólicas constituyen la fisiopatología de dicha enfermedad y se encuentran estrechamente relacionadas con su desarrollo y progresión.

Fisiopatología de la DMT2

En etapas tempranas, la resistencia a la insulina surge como consecuencia de la interacción de varios factores genéticos, ambientales y metabólicos, dando como resultado una disminución en la sensibilidad de los tejidos a esta hormona; sin embargo, la hiperglucemia, en esta etapa no se manifiesta clínicamente, esto debido a la activación de mecanismos compensatorios por parte de las células β del páncreas, que se encargan de incrementar la secreción de insulina, para regular y mantener niveles normales de glucosa en sangre.

Conforme la enfermedad progresa, las células β pierden gradualmente la capacidad para mantener esta compensación, presentando disfunción progresiva y finalmente sufren apoptosis. La pérdida de masa funcional de estas células, aunada al incrementando la resistencia a la insulina, favorece un aumento en la producción hepática de glucosa, de esta manera, tales alteraciones llevan al incremento de los niveles de glucosa en sangre, dando lugar a intolerancia a la glucosa y posteriormente a hiperglucemia crónica, como se muestra en la **Figura 1**. (Kasper et al., 2015).

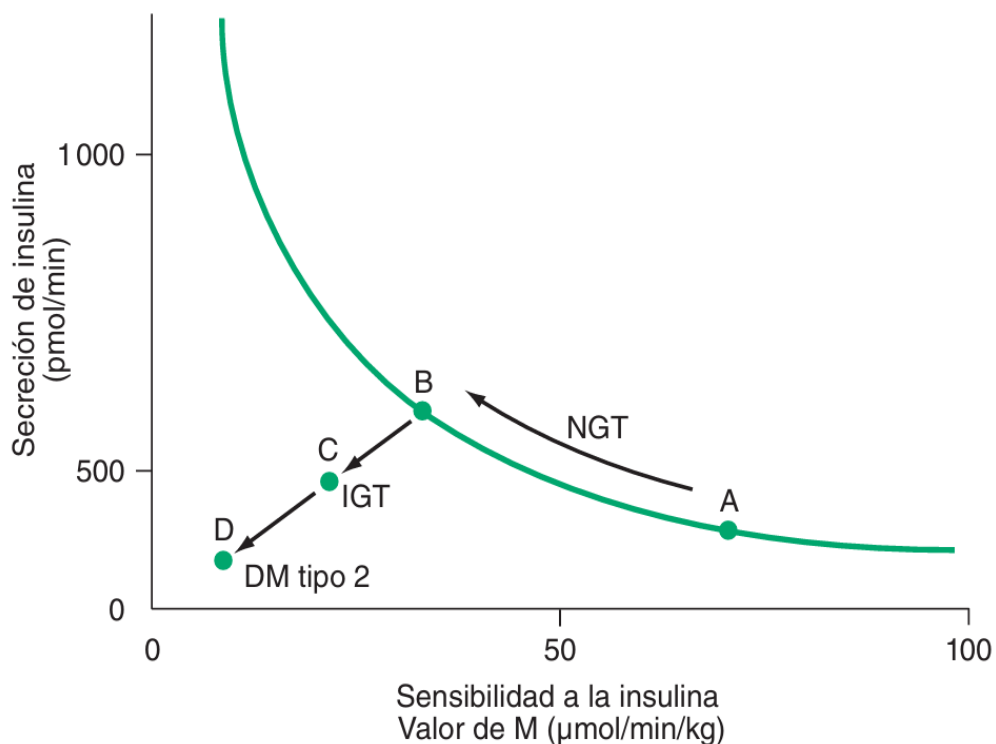


Figura 1. Cambios metabólicos ocurridos durante el desarrollo de DMT2. Se presenta la relación entre la sensibilidad a la insulina y la secreción de esta como mecanismo compensatorio. Conforme disminuye la sensibilidad a la insulina, las células β del páncreas aumentan la secreción de dicha hormona para mantener un estado normoglucémico (NGT, punto A al B). Sin embargo, la actividad compensatoria resulta insuficiente debido al deterioro de dichas células; desarrollando, inicialmente, Intolerancia a la Glucosa (IGT, punto C) y posteriormente, con el progreso de ello, Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2, punto D). Adaptado de: Harrison. Principios de Medicina Interna 19ª edición.

Hiper glucemia crónica en la progresión de la DMT2

La exposición prolongada a un ambiente hiperglucémico, constituye uno de los principales determinantes de la progresión de la enfermedad, ya que la hiperglucemia, evaluada clínicamente por el porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c), la cual refleja la exposición promedio de la sangre a la glucosa durante los dos a tres meses previos, representa el principal indicador del estado de control glucémico del paciente. (American Diabetes Association, 2025). La importancia del control glucémico radica en que la exposición prolongada a concentraciones elevadas de glucosa inducen la activación simultánea de diversos mecanismos moleculares (Marcovecchio et al., 2011a) [6](#), entre ellos se encuentra la vía de los polioles, que, como consecuencia a la metabolización del exceso de glucosa, aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Brownlee, 2001; Marcovecchio et al., 2011b). De igual manera, el exceso de glucosa promueve la formación de productos finales glicación avanzada (AGEs) por medio de la interacción y la unión de glucosa a moléculas funcionales; los AGEs pueden llegar a acumularse y alterar la estructura y función de biomoléculas, además de que pueden llevar a cabo la unión con su receptor, activando múltiples cascadas de señalización intracelular, favoreciendo la producción de mediadores proinflamatorios (Mahali et al., 2011; Singh et al., 2001; Yamagishi et al., 2006). Asimismo, el estado de hiperglucemia induce la activación de otras rutas metabólicas, como la vía de la proteína cinasa C (PKC), que

participa en la regulación de procesos relacionados con la inflamación (Brownlee, 2001). En conjunto, estas alteraciones favorecen la presencia de un ambiente caracterizado por estrés oxidativo e inflamación crónica, el cual contribuye al deterioro progresivo de las células beta del páncreas, disminuyendo así la cantidad de células funcionales y por lo tanto, la secreción de insulina, limitando la captación de glucosa y, de esta manera, perpetuando el estado de hiperglucemia (Fu et al., 2017; Park et al., 2014; Poitout & Robertson, 2002; Volpe et al., 2018).

Inflamación crónica de bajo grado y su papel en la progresión de la DMT2

Además de las alteraciones metabólicas clásicas, se ha reconocido que la DMT2 se caracteriza por un estado de inflamación crónica de bajo grado (Fig. 2) (Cifuentes et al., 2025; Duncan et al., 2003; Hameed et al., 2015; Oguntibeju, 2019; Pradhan et al., 2001). Esto como consecuencia de la hiperglucemia persistente, la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), los cuales, a su vez, favorecen el estrés oxidativo y la activación de células del sistema inmune (Robertson et al., 2004). Como sabemos, la inflamación corresponde a una respuesta fisiológica a estímulos dañinos. Tal respuesta consiste en una fase inicial desencadenada por la interacción de células del sistema inmunitario y la producción de mediadores proinflamatorios que amplifican dicho proceso por medio del reclutamiento celular y la presencia de signos; esto va seguido de una fase resolutive principalmente por la producción de mediadores pro-resolutivos especializados. Sin embargo, puede presentarse inflamación crónica de bajo grado, la cual se refiere a condiciones en las que el proceso inflamatorio persiste, aunque a baja intensidad, es decir, a un nivel subclínico en el que no hay signos ni síntomas claros como dolor, aumento de temperatura u otras alteraciones funcionales; además, no hay una fase resolutive y existe una activación sostenida del sistema inmune y la producción persistente de mediadores proinflamatorios (Cifuentes et al., 2025; Fakhoury et al., 2022; van de Vyver, 2023), como interleucina 12 (IL-12) (Luo et al., 2024), el factor de necrosis

tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 1 beta (IL-1 β), los cuales se han visto asociados con el desarrollo de resistencia a la insulina y la presencia de DMT2 (Böni-Schnetzler & Meier, 2019; Cataño Cañizales et al., 2018; Guzmán-Flores & López-Briones, 2012; León-Pedroza et al., 2015).

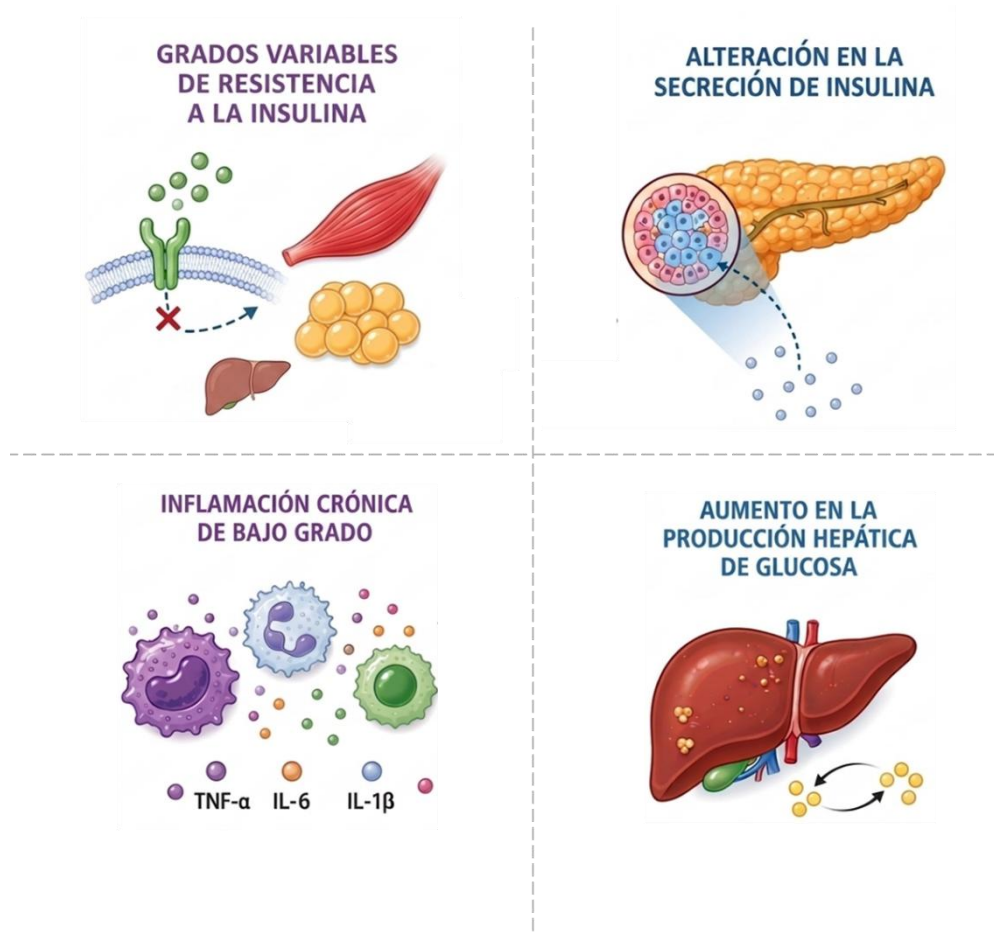


Figura 2. Principales alteraciones metabólicas e inmunológicas presentes en la fisiopatología de la Diabetes Mellitus Tipo 2. La DMT2 se caracteriza por grados variables de resistencia a la insulina, alteración en la secreción de insulina, aumento en la producción hepática de glucosa y un estado de inflamación crónica de bajo grado. Tales alteraciones, en conjunto, contribuyen al desarrollo y mantenimiento de la hiperglucemia crónica, favoreciendo el desarrollo y progresión

de la enfermedad.

El aumento sostenido de estas citocinas contribuye al establecimiento de un estado proinflamatorio sistémico, el cual puede activar respuestas inmunes tanto a nivel periférico como a nivel local. Este ambiente proinflamatorio favorece la activación y el reclutamiento de células inmunes en los islotes pancreáticos, promoviendo una respuesta inflamatoria local que afecta directamente la función de las células beta. Como consecuencia, las células β pancreáticas pueden presentar alteraciones en la secreción de insulina, disfunción y activación de vías proapoptóticas, lo que conduce a una disminución progresiva de la masa funcional de estas células (Guzmán-Flores & López-Briones, 2012). Este mecanismo inflamatorio contribuye de manera directa al desarrollo de la resistencia a la insulina y a la disfunción progresiva de las células beta pancreáticas, desempeñando un papel clave en la progresión de la enfermedad y en la aparición de sus complicaciones (Giacco & Brownlee, 2010; Navarro-González & Mora-Fernández, 2008).

Participación de las subpoblaciones de monocitos en la respuesta inflamatoria

Por lo cual, el estado de inflamación crónica de bajo grado que se observa en la DMT2 no solo eleva las citocinas proinflamatorias a nivel sistémico, sino que también activa a las células del sistema inmune innato, entre ellas, las células de origen mieloide, como monocitos y macrófagos (Citro et al., 2020). Estas células que responden a las señales metabólicas alteradas, como la hiperglucemia, el aumento de los ácidos grasos y la presencia de los productos de glicación avanzada, que actúan como los estímulos que promueven inflamación, al desencadenar vías de señalización intracelular que llevan a la activación de los factores de transcripción como NF- κ B y AP-1 y como resultado, se da un aumento en la producción de citocinas proinflamatorias, de quimiocinas encargadas de atraer y activar a más células inmunes, generando un bucle de retroalimentación que mantiene esta inflamación. (Berbudi et al., 2020; Dludla et al., 2023). Entre las

células de la inmunidad innata que participan en este proceso, se destaca a los monocitos circulantes, los cuales constituyen una población heterogénea de alrededor del 10% del total de leucocitos, tal población se clasifica según la expresión de CD14, un correceptor de lipopolisacáridos, y de CD16, un receptor de FCY-III (Maruo et al., 2018). A partir de esta clasificación, se dividen en tres subpoblaciones: monocitos clásicos (CD14⁺⁺ CD16⁻) que constituyen aproximadamente del 80 al 90%, intermedios (CD14⁺ CD16⁺) con un porcentaje de alrededor del 2-11% y monocitos no clásicos (CD14⁺ CD16⁺⁺) que representan alrededor del 2-8% (Yang et al., 2014a) (Figura 3). Los monocitos clásicos, son la principal subpoblación predominante, estos se caracterizan por expresar altos niveles de CCR2 y CD62L y baja expresión de CX3CR1, favoreciendo su migración hacia tejidos inflamados, en donde pueden diferenciarse a macrófagos tipo 1; además, dichas células presentan elevada capacidad fagocítica y producción de proteínas antimicrobianas (Yang et al., 2014b), destacando como una primera línea de respuesta ante infección e inflamación. Los monocitos clásicos, al abandonar la médula ósea, puede proceder a madurar progresivamente, dando lugar a los monocitos intermedios y posteriormente, estos pueden dar origen a los monocitos no clásicos, conocidos por patrullar la superficie endotelial, participando así, en la vigilancia inmunológica y la respuesta inflamatoria (Kapellos et al., 2019; Yang et al., 2014c).

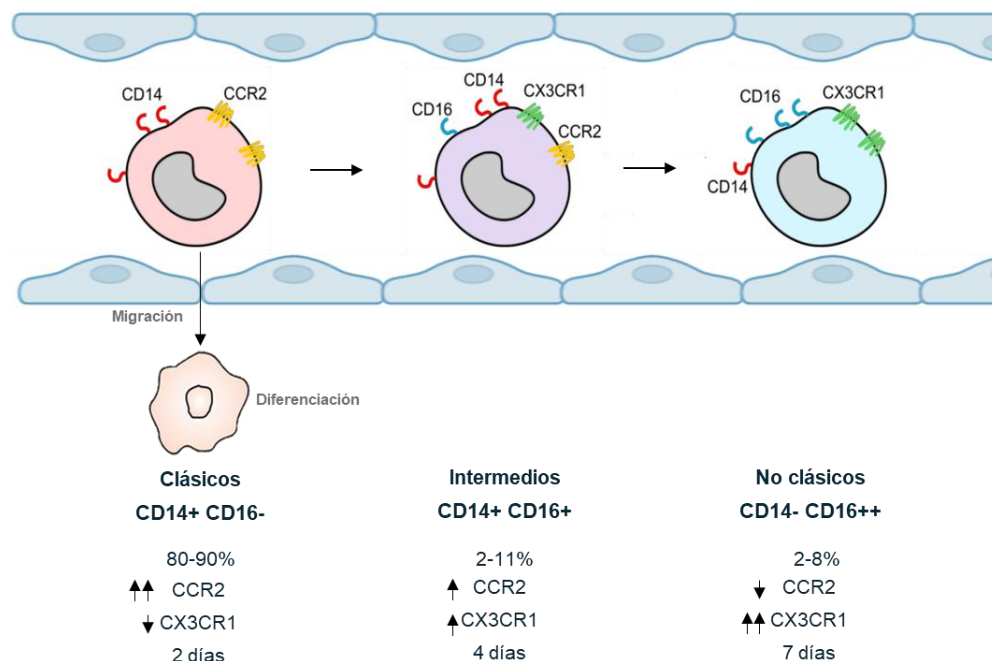


Figura 3. Clasificación de las subpoblaciones de los monocitos circulantes.

Los monocitos circulantes se clasifican de acuerdo con la expresión de CD14 y CD16 en monocitos clásicos (CD14⁺⁺CD16⁻), intermedios (CD14⁺⁺CD16⁺) y no clásicos (CD14⁺CD16⁺⁺). Los monocitos clásicos representan la subpoblación predominante y se caracterizan por una alta expresión de CCR2, lo que favorece su reclutamiento hacia sitios de inflamación, donde pueden diferenciarse en células efectoras según las señales del microambiente tisular. En contraste, los monocitos no clásicos expresan altos niveles de CX3CR1 y participan principalmente en la vigilancia endotelial.

Se han reportado variaciones en la distribución porcentual de estas subpoblaciones, en condiciones de enfermedades crónicas; los niveles elevados de monocitos clásicos e intermedios se han visto asociados con un mayor riesgo de eventos cardíacos y el desarrollo de aterosclerosis (Rahman, 1989). En la DMT2, se ha reportado una desregulación en la cantidad de monocitos CD16⁺ (Maruo et al., 2018). Sin embargo, la subpoblación de monocitos clásicos representa más del 80% del total de monocitos circulantes y, como se mencionó anteriormente, poseen alta capacidad migratoria debido a su alta expresión del receptor CCR2 (Yang et al., 2014b). En la DMT2, se ve favorecido un incremento de mediadores quimiotácticos como MCP-1 (Chacón et al., 2007; Liu et al., 2012), el cual, promueve el reclutamiento e infiltración de monocitos desde la circulación hacia los tejidos dañados (Xu et al., 2003), es decir, estos participan en la respuesta inflamatoria temprana y de esta manera pueden contribuir a la inflamación local. Por lo cual, la activación o alteraciones funcionales de estas células, podrían contribuir al establecimiento de inflamación crónica de bajo grado.

Deterioro de las células beta del páncreas mediado por inflamación

A nivel local, en el páncreas, este ambiente proinflamatorio daña la integridad y la funcionalidad de las células beta, debido a la exposición continua a citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6, provocando estrés celular, daño mitocondrial y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS); que promueven la disfunción de dichas células y a la activación de vías proapoptóticas, contribuyendo a la pérdida de

masa funcional de estas células, llevando a una secreción de insulina inadecuada (Barthson et al., 2011; Dłudla et al., 2023), que resultará en el progreso y desarrollo de DMT2. Además, las citocinas proinflamatorias que producen las células mieloides no solo promueven el desarrollo de la enfermedad afectando directamente a las células beta, sino que también alteran la señal del receptor de insulina, el cual, en condiciones normales, la insulina interactúa con su receptor, induciendo autofosforilación y la activación de proteínas IRS que activan principalmente la vía PI3K–Akt, la cual resulta en la translocación de Glut 4 a la membrana plasmática en músculo y tejido adiposo, llevando a cabo el ingreso de glucosa al interior de la célula (Tilg & Moschen, 2008). Sin embargo, las citocinas proinflamatorias alteran la señalización de este receptor, a través de la activación de vías como JNK, IKK β y STAT3; provocando cambios en la traducción de proteínas, inhibiendo la capacidad de la señal de la insulina para transmitirse, contribuyendo a la resistencia a la insulina, lo que es uno de los principales problemas en la DMT2. En conjunto, estos procesos que se ven alterados, indican que la DMT2 es una enfermedad en la que contribuyen distintas alteraciones tanto metabólicas como inmunológicas y de disfunción celular, en las que se ven implicadas células del sistema inmunitario.

Sistema Renina Angiotensina y su acción inmunomoduladora

De igual forma, se ha descrito en la DMT2, la desregulación de sistemas fisiológicos como el Sistema Renina Angiotensina (Lieberman & Sastre, 1980; Wu et al., 2000). El cual consiste en un eje fisiológico, compuesto por distintas enzimas, sustratos y receptores, como se muestra en la **figura 4**. A nivel sistémico, participan principalmente en la regulación de la presión arterial. Sin embargo, además de su acción sistémica, se expresan localmente en gran variedad de tejidos y células, incluyendo a células del sistema inmunitario, en donde es objeto de estudio por su acción inmunomoduladora (Lapteva et al., 2001; Okamura et al., 1999). Primordialmente, destaca la acción de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE), la cual es una carboxipeptidasa encargada de hidrolizar gran variedad de péptidos (Semis et al., 2019), en este sistema, principalmente a la Ang I, el cual consiste en un decapeptido inactivo que al

hidrolizar a su extremo carboxiterminal por medio de la ACE, se convierte a su forma activa, la Ang II, un octapéptido capaz de ejercer múltiples efectos biológicos a través de la activación de sus receptores como Receptor de Angiotensina II Tipo I (AT1R) y Receptor de Angiotensina II Tipo II (AT2R), los cuales son miembros de la superfamilia de receptor acoplados a proteínas G de siete dominios transmembrana. Dichos receptores ejercen acciones distintas y contrarrestantes tras su interacción con la Ang II, AT1R se conoce por su acción vasoconstrictora y proinflamatoria, mientras que AT2R lleva a cabo función vasodilatadora, antifibrótica y antiinflamatoria. Ambos receptores tienen gran afinidad por la Ang II, sin embargo, AT2R se expresa mayormente en tejido fetal y en desarrollo y disminuye su expresión en la edad adulta, conservándose en niveles bajos en tejidos como la médula suprarrenal, útero, ovario, endotelio vascular y cerebro (Steckelings et al., 2005); mientras que AT1R se expresa ampliamente en la mayoría de tejidos del organismo, principalmente en órganos del sistema cardiovascular, riñones, glándulas suprarrenales, sistema nervioso, pulmones e incluso células del sistema inmunitario; manteniendo su expresión con el paso del tiempo y el desarrollo del organismo. (Allen et al., 1999).

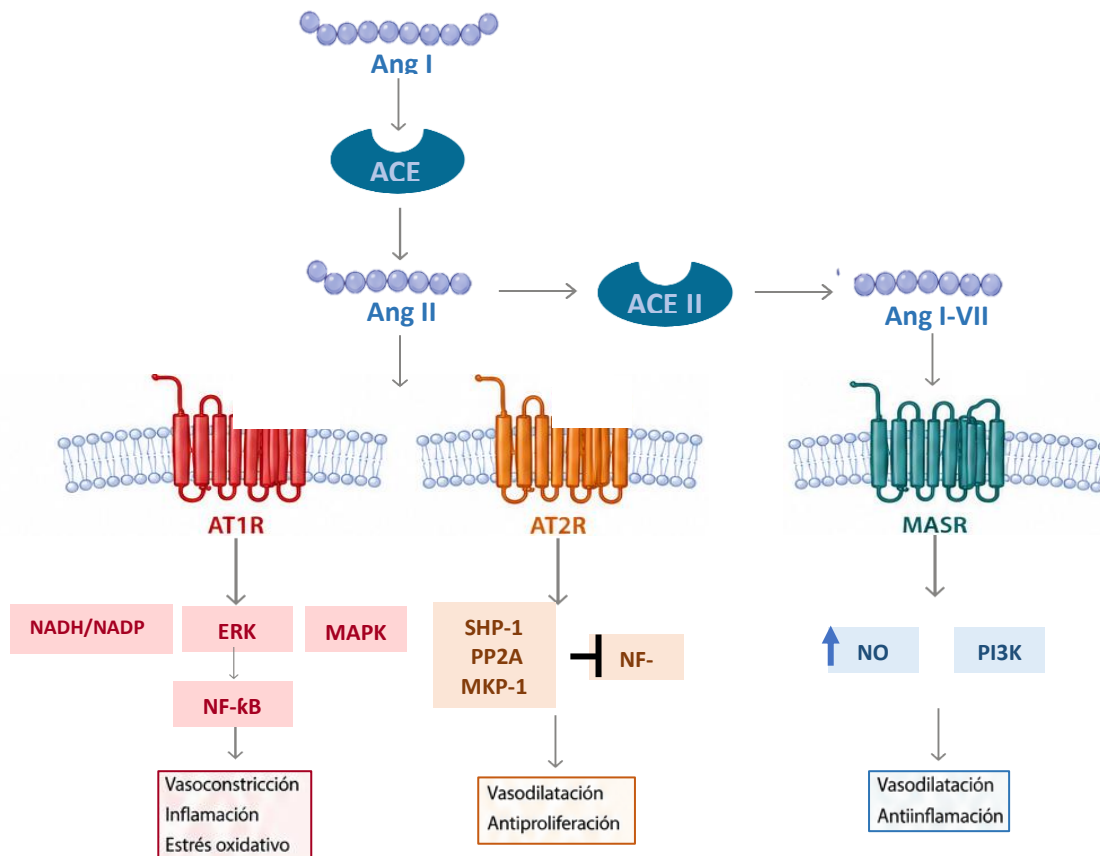


Figura 4. Principales ejes del Sistema Renina Angiotensina (RAS). El decapeptido Angiotensina I (Ang I) es hidrolizado por la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE), a su forma activa, la Angiotensina II (Ang II), el cual, a través de sus receptores como el Receptor de Angiotensina Tipo 1 (AT1R), activa vías de señalización como MAPK, NADH/NADPH, ERK 1/2, entre otras, que promueven inflamación, estrés oxidativo, proliferación celular, etc; mientras que el Receptor de Angiotensina Tipo 2 (AT2R) promueve una respuesta contraria a los efectos del AT1R, principalmente por la activación de fosfatasas como SHP-1, PP2A, MKP-1 y la inhibición de NF- κ B. La Ang II puede ser hidrolizada por la Enzima Convertidora de Angiotensina II (ACE II), que la convierte a Angiotensina I-VII (Ang I-VII), la cual actúa a través del Receptor Mas (MasR), activando mecanismos protectores de vasodilatación, antioxidantes y antiinflamatorios.

La expresión de los principales componentes del RAS ha sido estudiada recientemente, principalmente de ACE1, la cual ha sido evaluada en células del sistema inmune, así como en las distintas subpoblaciones monocitarias, ya que, dichas células, constituyen una población celular del sistema inmune innato que circula en sangre periférica, desempeñando un papel central en la respuesta inflamatoria. En dichos estudios, ha destacado una mayor expresión en la subpoblación de monocitos clásicos (CD14⁺⁺ CD16⁻) tanto a nivel de ARNm como a nivel proteína, esto en comparación con las otras subpoblaciones, correspondientes a monocitos intermedios (CD14⁺ CD16⁻) y no clásicos (CD14⁻ CD16⁺); de igual forma, se ha visto una mayor conversión de Ang I a Ang II en esta subpoblación, siendo evaluado por medio de un ensayo de actividad realizado en monocitos obtenidos de individuos sanos (Rutkowska-Zapała et al., 2015a). Esta expresión diferencial entre las distintas subpoblaciones, los autores la refieren debido a su rol en la respuesta inflamatoria, ya que los monocitos clásicos, además de ser el primer estadio de maduración entre estas subpoblaciones y la más prevalente, resultan ser altamente migratorios y fagocíticos, además de los primeros en actuar en la respuesta inmune. (Mukherjee et al., 2015; Rutkowska-Zapała et al., 2015a). Esta característica, además de su

mayor proporción comparada con las otras subpoblaciones, despierta el interés en la evaluación de la ACE1 en monocitos clásicos, ya que además, se ha evaluado la actividad de esta enzima, en células mieloides, al ser sobreexpresada, específicamente en la línea celular THP-1, por medio del plásmido pcdna 3.1 (-), el cual contiene la secuencia completa codificante de la ACE, en el estudio mencionado, se observó como esta sobreexpresión promovió cambios en su morfología y función, dando como resultado un fenotipo similar a macrófagos, ya que por medio de análisis microscópico se observaron células con una morfología más aplanada, irregular y extendida, así como un aumento en su capacidad de adhesión, lo cual es un fenotipo similar a macrófagos; (Trojanowicz et al., 2014). Además de los cambios morfológicos, la sobreexpresión de ACE se asoció con cambios en la funcionalidad de las células, mostrado en un aumento en la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, por lo tanto, sus datos sugieren que ACE media una activación alternativa de macrófagos y puede promover un fenotipo con propiedades proinflamatorias (Trojanowicz et al., 2014). Tales efectos, pueden verse relacionados al eje ACE1/ANG2/AT1R, ya que estudios han demostrado que el tratamiento de células THP-1 con ANG2, resultan en un estímulo para la diferenciación celular, observado por un incremento en marcadores como CD116, así como de moléculas implicadas en procesos de adhesión e interacción celular como quimiotaxis y fagocitosis (CD15, CD44, CD33 y CD49f). De igual forma se ha observado un aumento en la expresión de marcadores proinflamatorios, tales como HLA-DR, TNF- α , CD64, CD11c y CD38. Este efecto se atribuye a la interacción de Ang II con su receptor AT1, ya que, al utilizar un inhibidor de este, tal efecto no fue llevado a cabo (Barhoumi et al., 2023). Es por ello, que la interacción del péptido Ang II con su receptor AT1, se destaca dentro del RAS, debido a la relevancia en su respuesta. Además, estudios han demostrado que la interacción de la Ang II con el receptor AT1, promueve un estado proinflamatorio tras la activación de vías de señalización intracelular, entre estas, destacan la vía de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK), incluyendo p44/42 MAPK (ERK1/2) y p38 MAPK, las cuales participan en la transducción de señales extracelulares que ejercen una respuesta celular específica (Wang et al., 2012), comúnmente relacionadas a proliferación y

diferenciación celular; y regulación inmune, inflamación y apoptosis, respectivamente. Así como también, esta activación del receptor AT1, tras el estímulo con Ang II como sustrato, resulta en un incremento, significativo, de la expresión de genes como IL-6 y TNF- α , los cuales son altamente proinflamatorios (Wang et al., 2012). De igual forma, se ha demostrado que la Ang II también participa en la generación de especies reactivas de oxígeno, como resultado de la activación enzimática de NADPH y NADH oxidasa, actuando como segundo mensajero que pueden generar estrés celular (Griendling et al., 1994), tales mecanismos podrían contribuir tanto a la activación celular, como a la amplificación de la respuesta inflamatoria en células del sistema inmunitario; lo cual, al presentarse de manera local, en tejido y células del sistema inmunitario, puede favorecer el estado proinflamatorio que es característico de la DMT2. En este contexto, el RAS desempeña un papel relevante en la fisiopatología de la DMT2, esto debido a la inhibición de la sensibilidad a la insulina, en donde se ve involucrada la activación de vías de señalización como PKC y MAPKs, resultado de la interacción de Ang II con su receptor AT1 (Hirosumi et al., 2002; Olivares-Reyes et al., 2009). Contribuyendo al desarrollo de la DMT2, sin embargo, los estudios mencionados se han centrado en la evaluación de los componentes del RAS a nivel sistémico, principalmente mediante la evaluación de las enzimas, receptores y/o sustratos en suero; por lo cual, resulta de gran relevancia evaluar dichas alteraciones a nivel local, principalmente en células del sistema inmunitario, como la subpoblación de monocitos clásicos, que, como ya se mencionó, están estrechamente relacionadas a la respuesta inflamatoria. De este modo, la evaluación de la ACE en estas células, nos permitirá evaluar y profundizar sobre las alteraciones metabólicas que vinculan el RAS con la activación inmune y el estado proinflamatorio de bajo grado que es relacionado con el estado de hiperglucemia en la DMT2.

JUSTIFICACIÓN

La Diabetes Mellitus Tipo 2, constituye uno de los principales problemas de salud, ya que representa más del 90% de los casos de diabetes en general, teniendo

una prevalencia del 6.28% en la población mundial, y un 18% en población mexicana; esperando un aumento progresivo de estas cifras en los próximos años. La DMT2, se considera una enfermedad cronicodegenerativa, caracterizada por distintas alteraciones metabólicas que conllevan al desarrollo y la presencia de hiperglucemia crónica, la cual representa uno de los principales determinantes de la progresión y severidad de la enfermedad, debido a la activación de vías de señalización relacionadas con daño celular e inflamación. Otra de las alteraciones características de esta enfermedad, es la inflamación crónica de bajo grado, caracterizado por la activación sostenida de células del sistema inmune, entre ellas, los monocitos clásicos, una subpoblación caracterizada por representar alrededor del 80% del total de monocitos y contar con alta capacidad de migración hacia sitios de inflamación o daño, por lo cual se destaca su participación en la respuesta inflamatoria temprana. En estas células se ha descrito la expresión local de ACE, cuya activación da como resultado la producción de Ang II, promoviendo una respuesta proinflamatoria, que, a su vez, puede contribuir a la inflamación crónica de bajo grado que se presenta en la DMT2. Lo cual, en conjunto con las alteraciones mencionadas, pueden promover el desarrollo y progresión de la enfermedad. Dado que la intensidad de este estado inflamatorio se ha relacionado con el grado de hiperglucemia y el control glucémico, resulta relevante evaluar y determinar las diferencias entre la expresión y actividad de ACE en monocitos clásicos, considerados una de las principales células efectoras de la inmunidad innata; esto nos permitirá ampliar el conocimiento sobre los mecanismos inmunometabólicos involucrados en la DMT2 y el estado de control glucémico de los pacientes con dicha enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe un incremento en la expresión y actividad de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ACE) en monocitos clásicos de pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado, en comparación a pacientes con control glucémico adecuado e individuos sanos?

HIPOTESIS

En individuos que presentan DMT2, el porcentaje de monocitos clásicos (CD14⁺CD16⁻) ACE⁺, la actividad de ACE y la expresión relativa de los genes ACE, AT1R y MasR presentan alteraciones asociadas con el control glucémico, siendo estas mayores en sujetos con control glucémico inadecuado en comparación con aquellos con control glucémico adecuado. Asimismo, la expresión génica de ACE y AT1R se asocia positivamente con parámetros bioquímicos y antropométricos relacionados con el estado metabólico, mientras que MasR presenta una asociación negativa con dichos parámetros.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la expresión y actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en monocitos clásicos (CD14⁺⁺CD16⁻) de individuos sanos y de pacientes con DMT2 con distinto control glucémico.

Objetivos específicos

1. Evaluar el porcentaje de monocitos clásicos que expresan ACE a nivel proteína, entre individuos sanos y pacientes con DMT2 clasificados de acuerdo a su control glucémico (adecuado e inadecuado control glucémico).
2. Determinar la actividad de ACE en cultivos de monocitos clásicos purificados, de pacientes con DMT2 clasificados de acuerdo a su control glucémico y en individuos sanos.
3. Cuantificar la expresión génica relativa de los principales componentes del sistema renina-angiotensina (AT1R, MASR y ACE) a nivel de ARNm en monocitos clásicos de los tres grupos de estudio ya mencionados.
4. Analizar la correlación entre la expresión de ACE, AT1R, MasR y niveles de Ang II con parámetros bioquímicos y antropométricos de los individuos

de estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional, analítico, comparativo y de corte transversal, derivado de un protocolo de investigación previamente aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) bajo el número de registro: R-2024-3301-033. Se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia, incluyendo a los individuos que cumplieron con los criterios de inclusión, no presentaron criterios de exclusión y aceptaron participar mediante la firma del consentimiento informado durante el periodo de reclutamiento establecido.

Participantes del estudio

Esta investigación fue aprobada por el comité bioético de la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS con número de registro R-2024-3301-033. Los participantes de este estudio son pacientes que acuden al Centro de Atención a la Diabetes (CADIMSS), en la clínica IMSS Unidad de Medicina Familiar 4, ubicada en el municipio de Guadalupe, Zacatecas. Contando con la presencia del médico especialista, que colaboró con la identificación de los pacientes que cumplen con los criterios de selección para invitarlos a participar en el proyecto por medio de donación de una muestra de sangre. Los individuos fueron catalogados como pacientes diabéticos con control glucémico adecuado con un valor de $HbA1c \leq 6.5\%$; y como control glucémico inadecuado a individuos con un valor de $HbA1c \geq 7.0\%$; según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA). Y como grupo control, se tomaron personas aparentemente sanas de una edad de entre 30 a 65 años, sin presencia de enfermedades crónico degenerativas, autoinmunes, infecciones, síndrome metabólico, ni prediabetes. Los criterios de exclusión para este estudio fueron mujeres embarazadas, presencia de procesos infecciosos e inflamatorios, enfermedades autoinmunes, administración de Inhibidores de la

Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) y/o diuréticos; así como pacientes con presencia de enfermedades cronicodegenerativas, tales como enfermedad renal crónica, neoplasias, enfermedades cardiovasculares, (entre otras alteraciones capaces de modificar la expresión y actividad del sistema renina-angiotensina, así como la función y/o activación de células inmunitarias). Se incluyeron un total de 35 participantes distribuidos en tres grupos: individuos sanos (n = 12), pacientes con DMT2 y control glucémico adecuado (n = 12) y pacientes con DMT2 y control glucémico inadecuado (n = 11). Debido a la disponibilidad de muestra biológica y a las características técnicas de cada ensayo, el número de muestras analizadas varió entre las diferentes determinaciones. Para los análisis de expresión génica por RT-qPCR se incluyeron 21 participantes (8 controles, 7 pacientes con control glucémico adecuado y 6 con control glucémico inadecuado). A cada participante se le dio a conocer en que consiste el estudio para obtener su aprobación y permiso por medio del consentimiento informado para proceder a la toma de muestra.

Obtención de la muestra

Posterior a la firma del consentimiento informado, se realizó la toma de muestras de sangre venosa periférica bajo condiciones de asepsia. Los participantes fueron colocados en posición cómoda, con el brazo en reposo, para así poder proceder a la identificación de una vena adecuada para la venopunción. El sitio de punción fue desinfectado con alcohol al 70 %, tras lo cual se llevó a cabo la extracción sanguínea mediante técnica estándar. Las muestras se recolectaron en tubos con anticoagulante heparina para los análisis experimentales moleculares y en tubos con EDTA para los análisis clínicos de laboratorio. Al finalizar el procedimiento, se indicó al participante mantener el brazo en reposo e indicar la presencia de cualquier molestia.

Exámenes de laboratorio

El control glucémico se evaluó mediante los porcentajes de HbA1c. Los parámetros clínicos requeridos para el análisis de correlación, tales como glucosa

en plasma en ayuno (FPG), insulina en ayuno, perfil de lípidos (colesterol total (tColesterol), colesterol-HDL (cHDL), colesterol LDL (c-LDL) y triglicéridos y HbA1c, fueron evaluados por un laboratorio de análisis clínicos privado. Dichos parámetros fueron determinados con el propósito de evaluar Índices que nos permitieran complementar la caracterización de la población de estudio para llevar a cabo la correlación con la expresión de ACE. Utilizando HOMA-IR, para estimar el grado de resistencia a la insulina; mientras que la funcionalidad de las células β , se determinó a través del HOMA- β , ambos, calculándose a partir de las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno. Adicionalmente, se determinó el TyG como otro marcador de resistencia a la insulina, calculado a partir de las concentraciones séricas de triglicéridos y glucosa en ayuno. De igual forma, se calculó el METS-IR, el cual integra la glucosa, triglicéridos, IMC y colesterol HDL, para determinar resistencia a la insulina.

Tabla 1. Índices metabólicos y antropométricos para evaluar el estado metabólico de los individuos de estudio.

Índice	Fórmula	¿Qué evalúa?
HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance)	$\text{HOMA-IR} = \frac{G \times I}{405}$	Grado de resistencia a la insulina, mediante la relación entre la glucosa y la insulina en ayuno. (Matthews et al., 1985)
HOMA-β (Homesotasis Model Assessment of β -cell function)	$\text{HOMA-}\beta = \frac{360I}{G - 63}$	Capacidad funcional y secretora de las células beta del páncreas en estado basal. (Matthews et al., 1985)

TyG (Triglyceride-Glucose Index)	$\text{TyG} = \ln \left(\frac{TG \times G}{2} \right)$	Estima indirectamente la resistencia a la insulina, mediante la glucosa y los triglicéridos en ayuno. (Kapellos et al., 2019)
METS-IR (Metabolic core for Insulin Resistance)	$\text{METS-IR} = \frac{\ln(2G + TG) \times IMC}{\ln(HDL)}$	Resistencia a la insulina y riesgo cardiometabólico. Incorpora variables antropométricas y lipídicas. (Yoon et al., 2021)
IMC (Índice de Masa Corporal)	$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (kg)}}{[\text{Talla (m)}]^2}$	Evalúa el grado nutricional y grado de adiposidad corporal general (WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry, 1995)
ICC (Índice Cintura-Cadera)	$\text{ICC} = \frac{CC}{CCa}$	Distribución de adiposidad central (<i>Waist Circumference and Waist-Hip Ratio</i> , 2011)

G = glucosa en ayuno (mg/dL)
I = Insulina en ayuno (μ U/mL)
TG = Triglicéridos (mg/dL)
HDL = colesterol HDL (mg/dL)

IMC = Índice de Masa Corporal (kg/m^2)
CC= Circunferencia de la cintura (cm)
CCa= Circunferencia de la cadera (cm)

Evaluación del porcentaje de monocitos clásicos ACE+

Para determinar el porcentaje de monocitos que expresan ACE a nivel proteico, se realizó la tinción en sangre completa, previa a la lisis de eritrocitos, para obtener la fracción leucocitaria y mantener la integridad celular para el marcaje con anticuerpos. La lisis de eritrocitos se llevó a cabo con el buffer 10X RBC Lysis Buffer (Multi-species) (eBioscience), el cual permite la eliminación selectiva de los eritrocitos sin afectar de manera significativa a los leucocitos. Brevemente, las muestras de sangre fueron diluidas en una proporción 1:1 con PBS. Posteriormente, se adicionó buffer de lisis y las muestras se mezclaron suavemente e incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente, protegidas de la luz directa. Una vez completada la lisis, las células fueron lavadas con PBS y centrifugadas a 500 g durante 5 minutos; el sobrenadante fue descartado y el pellet celular se resuspendió en el volumen adecuado de PBS para la tinción con anticuerpos monoclonales específicos: CD14-APC, CD16-PE-Cy7 y ACE-PE. La combinación de los marcadores CD14 y CD16 permitió la identificación de las tres subpoblaciones de monocitos: clásicos ($\text{CD14}^{++}\text{CD16}^{-}$), intermedios ($\text{CD14}^{++}\text{CD16}^{+}$) y no clásicos ($\text{CD14}^{+}\text{CD16}^{++}$) en el análisis de datos. Se realizó la inmunotinción mediante la adición de 1 μ L de anticuerpo anti-CD14 conjugado con Alofocianina (APC) (BD™) por cada 1×10^5 células, 1 μ L de anti-CD16 conjugado con Ficoeritrina-Cianina 7 (PE-Cy7) (BD™) por cada 1×10^5 células y 1 μ L de anticuerpo anti-ACE conjugado con Ficoeritrina (PE) (eBioscience) por cada 1×10^5 células en la muestra. Las muestras fueron mezcladas e incubadas durante 30 minutos a 4 °C, en condiciones de oscuridad. Una vez finalizada la incubación, las células fueron lavadas con 1 mL de PBS y centrifugadas a 200 g durante 10 minutos para eliminar el exceso de anticuerpos no unidos. El sobrenadante fue desechado y el pellet celular se resuspendió en 200 μ L de PBS para su posterior adquisición en un citómetro de flujo modelo FACS Canto II. Los resultados sobre la expresión de ACE se reportaron como el porcentaje de monocitos clásicos ACE

positivos (% ACE+), mientras que la cantidad de ACE expresada por célula se evaluó mediante la Intensidad Media de Fluorescencia (IMF), reportado como (IMF).

Obtención de células mononucleares (PBMCs) de sangre venosa periférica

La sangre venosa periférica obtenida de cada individuo fue diluida en una proporción 1:1 con PBS y cuidadosamente colocada sobre 3 mL de Ficoll-Histopaque 1077 (Sigma Aldrich). Posteriormente, se centrifugaron a 2500 rpm durante 20 minutos. Tras la centrifugación, se recuperó la capa correspondiente a las células mononucleares, las cuales fueron lavadas con PBS, centrifugando a 1500 rpm durante 5 minutos. Se realizó un conteo celular en una cámara de Neubauer utilizando el colorante azul de tripano, para determinar el número y viabilidad de las PBMCs.

Purificación de monocitos clásicos

Para la evaluación de la actividad de la ACE y de su expresión a nivel de ARNm en la subpoblación monocítica de interés, se realizó la purificación de monocitos clásicos (CD14++CD16-) por medio de un sistema de separación inmunomagnética por selección negativa con el kit Classical Monocyte Isolation, human (Miltenyi Biotec). Se realizó a partir de PBMCs obtenidas mediante gradiente de densidad. Para la purificación de monocitos clásicos, el pellet de PBMCs fue resuspendido en buffer MACS (30 µL por cada 1×10^7 células). Posteriormente, se adicionaron 10 µL de reactivo bloqueador de receptores Fc (FcR blocking reagent) y 10 µL del cóctel de anticuerpos específicos para células no deseadas, seguido de una incubación de 5 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se agregaron 30 µL de buffer MACS y 20 µL de microperlas magnéticas anti-biotina, incubando nuevamente durante 5 minutos a temperatura ambiente. Una vez completado el marcaje, las células fueron resuspendidas en 500 µL de buffer MACS y transferidas a una columna LS previamente colocada en un campo magnético y enjuagada con 3 mL de buffer MACS. El flujo eluido, correspondiente a los monocitos clásicos no marcados, fue recolectado en un tubo

limpio. Finalmente, las células purificadas fueron lavadas mediante centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos y resuspendidas en el volumen adecuado para llevar a cabo el conteo y determinar viabilidad celular, para su posterior uso en los ensayos de actividad enzimática y análisis de expresión génica.

Evaluación de la actividad de la ACE en monocitos clásicos por medio de cultivo celular con Ang I

Para determinar la actividad de ACE, se llevó a cabo un cultivo de monocitos clásicos ya purificados mediante separación magnética, en el que se sembraron 2×10^5 células por pozo, para cada condición, en placas de 48 pozos. Posteriormente, se añadió el sustrato Ang I human acetate hydrate (Sigma Aldrich) a una concentración final de 1 μ M, la cual garantiza el suministro constante del sustrato al sistema durante el experimento de conversión del octapéptido Ang I a Ang II (Rutkowska-Zapała et al., 2015b). Las células fueron incubadas nuevamente a 37 °C durante 20 minutos en incubadora. De este modo, si ACE se encuentra activa, la Ang I es convertida en Ang II, la cual fue liberada al sobrenadante del cultivo. Una vez concluido el tiempo de incubación, el sobrenadante fue recuperado y centrifugado para su posterior obtención y almacenamiento a -80 °C hasta su posterior análisis, el cual, se realizó mediante un ensayo con el Human Angiotensin II ELISA Kit, siguiendo las indicaciones y especificaciones dadas por el fabricante del kit para cuantificar la Ang II producida por la ACE a través del cultivo con Ang I. La cantidad de Ang II producida, se reportó en picogramos por mililitro (pg/ml).

Evaluación de la expresión génica relativa de los principales componentes del RAS

La expresión relativa de los genes ACE, AT1R y MasR se evaluó en monocitos clásicos previamente purificados mediante RT-qPCR. Para ello, el ARN total fue extraído utilizando el kit RNeasy Mini (Qiagen, Valencia, CA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, el ARN purificado fue retrotranscrito

a cDNA empleando el kit QuantiTect Reverse Transcription (Qiagen). Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador LightCycler 480 (Roche, Inc., USA), utilizando Power SYBR Green PCR Master Mix (Life Technologies) como sistema de detección fluorescente. Los primers específicos para cada uno de los genes de interés fueron diseñados mediante la plataforma Integrated DNA Technologies (IDT) y se muestran en la Tabla. Los resultados se expresaron como niveles relativos de expresión génica utilizando el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, utilizando β -actina como gen de referencia para la normalización y tomando como referencia la expresión del grupo control.

Tabla 2. Secuencias de los primers utilizados para el análisis de expresión génica mediante RT-qPCR.

Primers	Secuencia
ACE	Forward <u>GGTGGTGTGGAACGAGTATG (Sense).</u> Reverse <u>CAGGGTGTGGTTGGCTATTT (AntiSense).</u>
AT1R	Forward <u>GGAAACAGCTTGGTGGTGATAG (Sense).</u> Reverse <u>GCATAAGTCAGCCAGTGCTAAA (AntiSense).</u>
MasR	Forward <u>GTGACTGATGGAGATGGAGATG (Sense).</u> Reverse <u>AATTCTAGGGATGCCCCGTAAAG (AntiSense).</u>

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando una prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. Se utilizó la prueba Kruskal Wallis para comparar las diferencias entre los tres grupos estudiados y U de Mann Whitney para llevar a cabo comparaciones entre dos grupos. El análisis estadístico se realizó utilizando el software de GraphPad Prism 8.0.1. Considerando como significativo, un valor $p < 0,05$. De igual forma, para determinar la asociación entre los porcentajes de monocitos clásicos ACE+ y la expresión génica con los parámetros bioquímicos y antropométricos se llevó a cabo mediante análisis de correlación de Spearman utilizando el software RStudio Versión 2026.06.0+242.

RESULTADOS

Características bioquímicas y antropométricas de los individuos de estudio

En este estudio, se incluyó la participación de 14 individuos sanos que conformaron el grupo control, y 19 individuos con diagnóstico de DMT2, los cuales se clasificaron en dos grupos: buen control glucémico ($HbA1c \leq 7.0\%$) y pobre control glucémico ($HbA1c \geq 7.0\%$), tomando en cuenta los criterios de la ADA, basándonos en el valor de HbA1c de cada individuo. Dichos grupos, están conformados por 20 individuos de sexo femenino y 13 de sexo masculino, con una edad media de entre 55 y 56 años en los grupos de DMT2 y de 45 en los individuos control, observando diferencia significativa entre los grupos con un valor $p=0.0147$. Por el contrario, variables antropométricas como el peso, IMC, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera e ICC, no mostraron diferencias significativas. Respecto a los parámetros relacionados con el metabolismo de la glucosa, se observó diferencia significativa en los niveles de glucosa en ayuno ($p=0.0004$), insulina sérica ($p<0.0001$), METS-IR ($p=0.0257$), índice TyG ($p=0.0172$) y HbA1c ($p<0.0001$), confirmando la clasificación de los pacientes de acuerdo a su estado de control glucémico. Por otra parte, dentro del perfil lipídico solo se observaron diferencias significativas en los niveles de colesterol total ($p<0.0001$), siendo ligeramente menores en los grupos de pacientes con DMT2 en comparación con el grupo control. Tales parámetros se muestran en la tabla 1.

Tabla 3. Características bioquímicas y antropométricas de los individuos de los grupos de estudio

<i>Variable</i>	<i>Grupo control</i>	<i>DMT2 Control glucémico adecuado</i>	<i>DMT2 Control glucémico inadecuado</i>	<i>p</i>
Edad (años)	45.07 ± 11.15	56.42 ± 9.356	55.91 ± 7.395	0.0147
Peso (kg)	80.41 ± 15.97	79.46 ± 9.213	80.98 ± 12.91	0.9071
Talla (m)	1.690 ± 0.1024	1.624 ± 0.1306	1.649 ± 0.08336	0.2712
IMC (kg/m ²)	27.94 ± 3.930	30.22 ± 2.732	29.97 ± 5.865	0.2833
Circunferencia de cintura (cm)	98.86 ± 14.97	98.75 ± 7.593	105.7 ± 11.55	0.3908
Circunferencia de cadera (cm)	106.2 ± 11.03	108.0 ± 7.350	112.9 ± 10.95	0.1903
ICC	0.9274 ± 0.07222	0.9152 ± 0.05881	0.9367 ± 0.05672	0.7853
Glucosa en ayuno (mg/dl)	86.86 ± 6.222	99.44 ± 11.68	127.0 ± 37.65	0.0004
Insulina sérica (UI/ml)	14.09 ± 8.378	20.70 ± 15.40	15.03 ± 8.807	<0.0001
HOMA-IR	3.054 ± 1.964	5.327 ± 4.639	4.712 ± 2.991	0.2501
HOMA-B	222.9 ± 130.5	199.5 ± 106.1	125.1 ± 111.1	0.0715
METS-IR	41.07 ± 6.421	45.44 ± 4.712	47.30 ± 8.894	0.0257
Triglicéridos (mg/dl)	170.3 ± 22.11	172.4 ± 33.59	180.0 ± 40.73	0.7178
Colesterol HDL (mg/dl)	54.03 ± 7.868	51.98 ± 8.023	46.95 ± 8.781	0.1133
Colesterol total (mg/dl)	164.4 ± 23.43	161.1 ± 32.11	157.0 ± 27.99	<0.0001
Colesterol vLDL (mg/dl)	34.06 ± 4.423	34.47 ± 6.719	36.00 ± 8.146	0.7178
Colesterol LDL (mg/dl)	76.29 ± 20.18	74.61 ± 26.64	74.05 ± 24.51	0.5428
índice TyG	8.899 ± 0.1445	9.034 ± 0.2020	9.281 ± 0.4552	0.0172
HbA1c (%)	5.242 ± 0.5157	6.227 ± 0.5125	8.719 ± 1.401	<0.0001

Estrategia de gate para la identificación de las distintas subpoblaciones de monocitos.

Se realizó la siguiente estrategia de gate, con el objetivo de identificar las distintas subpoblaciones monocitarias para llevar a cabo su correcto análisis, para esto, inicialmente se eliminaron dobletes celulares con ayuda de un dotplot basado en los parámetros de FSC-A (área) y FSC-H (altura) (Fig. 5a), permitiendo seleccionar únicamente los eventos que se presentaban de manera individual. Posteriormente, se identificaron a los monocitos por los parámetros de área y complejidad, correspondientes a FSC y SSC, excluyendo a las demás poblaciones presentes (Fig. 5b). Finalmente, las subpoblaciones monocíticas fueron delimitadas por su distinta expresión de los marcadores CD14 y CD16, observando la subpoblación correspondiente a monocitos clásicos CD14⁺ CD16⁻. (Fig. 5c), para determinar la expresión y la Intensidad Media de Fluorescencia de ACE en monocitos clásicos (Fig. 5d).

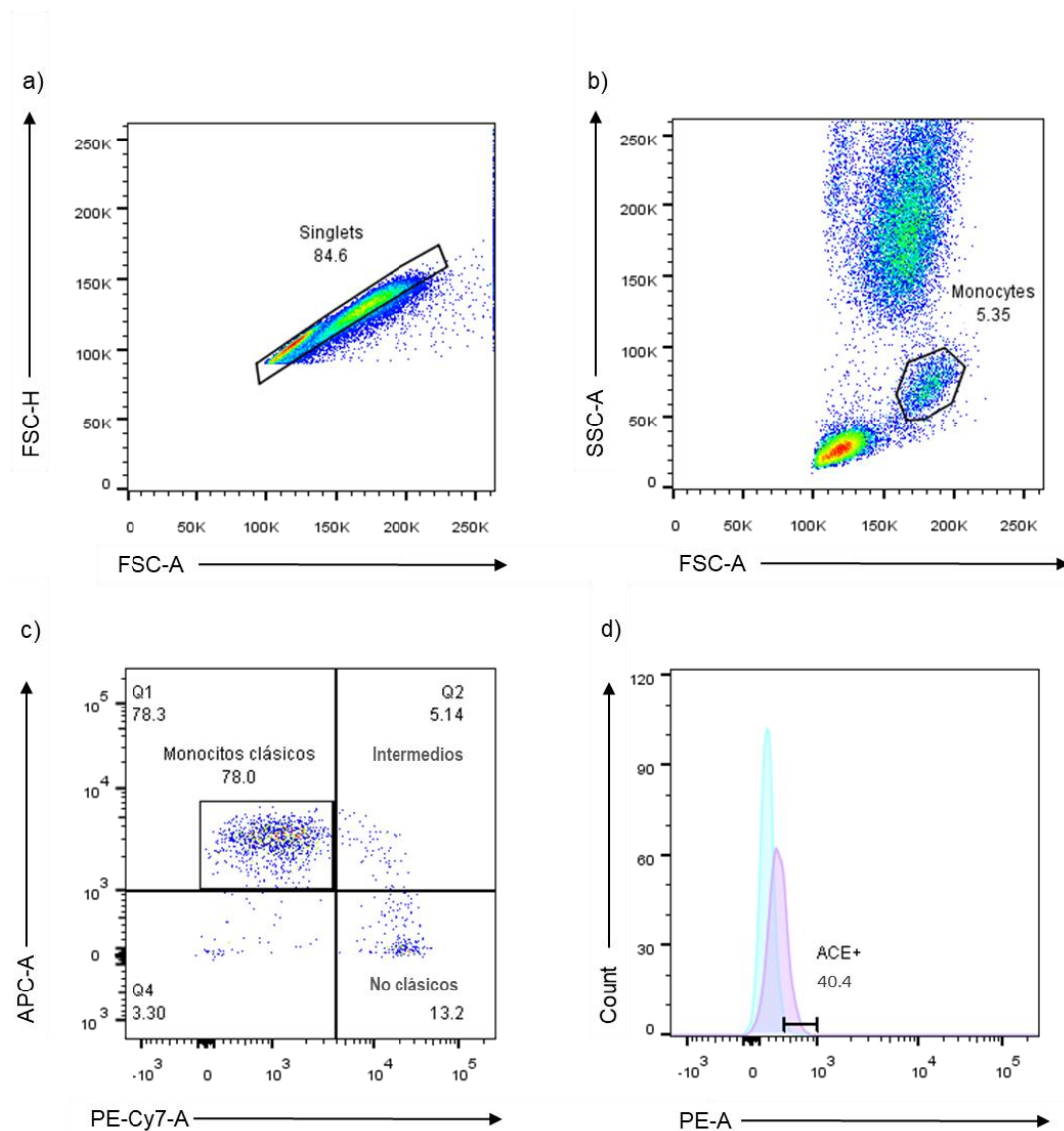


Figura 5. Estrategia de gate para la identificación de los monocitos clásicos y la evaluación en la expresión de ACE. a) Selección de células singlets, basado en parámetros de FSC-H y FSC-A, para llevar a cabo la exclusión de agregados celulares. b) Delimitación de la población de monocitos, basado en parámetros de tamaño y complejidad, FSC-A y SSC-A, correspondientemente. c) Identificación de la población de monocitos clásicos por la expresión de marcadores CD14 y CD16, utilizando los anticuerpos anti CD14 conjugado con APC y anti CD16 conjugado con PE-Cy7. d) Evaluación de la expresión de ACE por medio de un histograma de fluorescencia, a partir del cual se determinó el porcentaje de monocitos clásicos ACE+ y la Intensidad Media de Fluorescencia (IMF), utilizando anti ACE conjugado

con PE.

Distribución porcentual de la subpoblación monocítica clásica (CD14+CD16-) en pacientes con DMT2, con control glucémico adecuado y control glucémico inadecuado e individuos control.

Se evaluó el porcentaje de células CD14+ CD16- en individuos del grupo control, DMT2 con adecuado control glucémico y DMT2 con inadecuado control glucémico (**Fig. 6**). Los monocitos clásicos CD14+ CD16-, resultan ser la subpoblación celular predominante en los tres grupos, sin embargo, se observa una tendencia a la disminución en los pacientes con DMT2, siendo menor estadísticamente significativa en el grupo de DMT2 con respecto al grupo control ($p < 0.0073$) (**Fig. 6a**); de igual forma se observó una disminución significativa en el grupo de DMT2 con inadecuado control glucémico ($p < 0.0156$), al llevar a cabo la comparación con el grupo control (**Fig. 6b**).

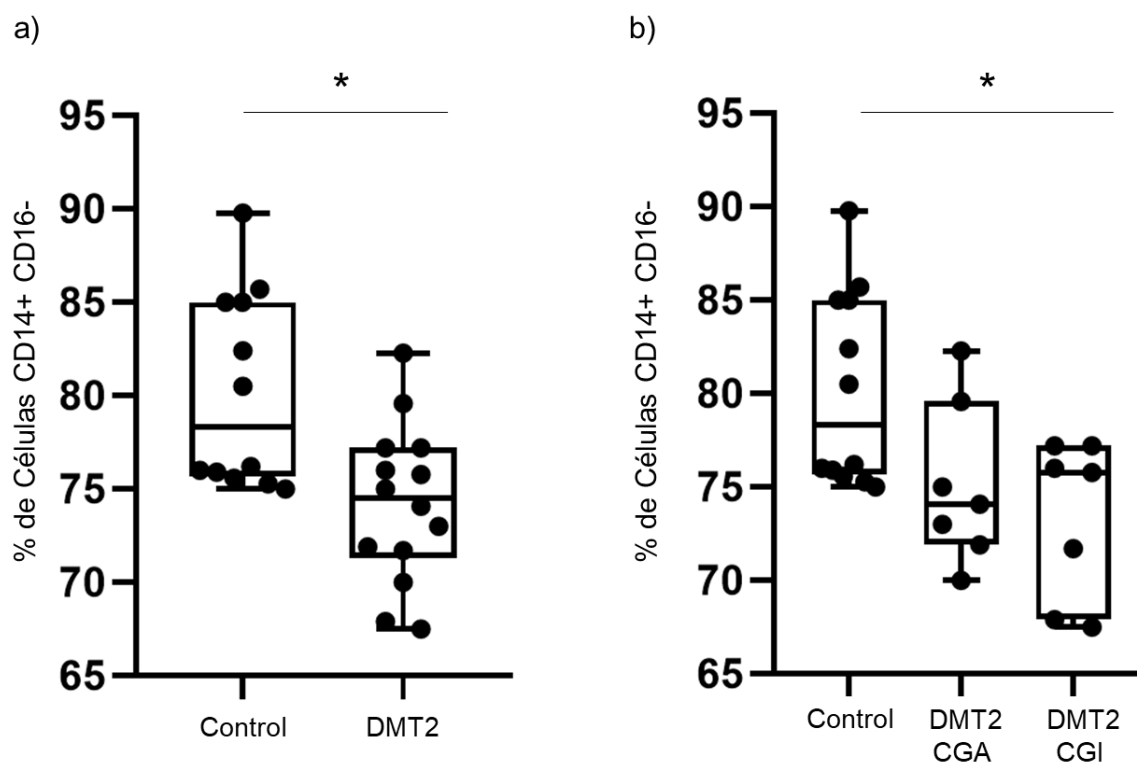


Figura 6. Comparación del porcentaje de monocitos clásicos CD14+ CD16-. a) Distribución del porcentaje de monocitos clásicos en el grupo control y el grupo de

sujetos con DMT2. b) Porcentaje de monocitos clásicos en sujetos control, pacientes con DMT2 con Control Glucémico Adecuado (DMT2 CGA) y pacientes con DMT2 con Control Glucémico Inadecuado (DMT2 CGI). Los datos se presentan como media $\pm$ DE, mostrando diferencia significativa en la cantidad porcentual de la subpoblación correspondiente a monocitos clásicos entre el grupo control y el grupo de pacientes con DMT2 ($p < 0.0073$). Se observa una disminución significativa entre el grupo control y el grupo de sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado ($p < 0.0156$); esto al realizar una prueba estadística de anova de una vía, tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Porcentaje de monocitos clásicos ACE+ en pacientes con DMT2 con buen control glucémico, pobre control glucémico e individuos control.

Para evaluar la expresión de ACE en monocitos clásicos, se determinó el porcentaje de células positivas mediante citometría de flujo, obteniendo un incremento en ambos grupos de DMT2, en comparación con el grupo control (**Fig. 7b**), siendo significativamente mayor ($p < 0.0306$) en el grupo de individuos con DMT2 cuando lo comparamos solo con el grupo control (**Fig. 7a**).

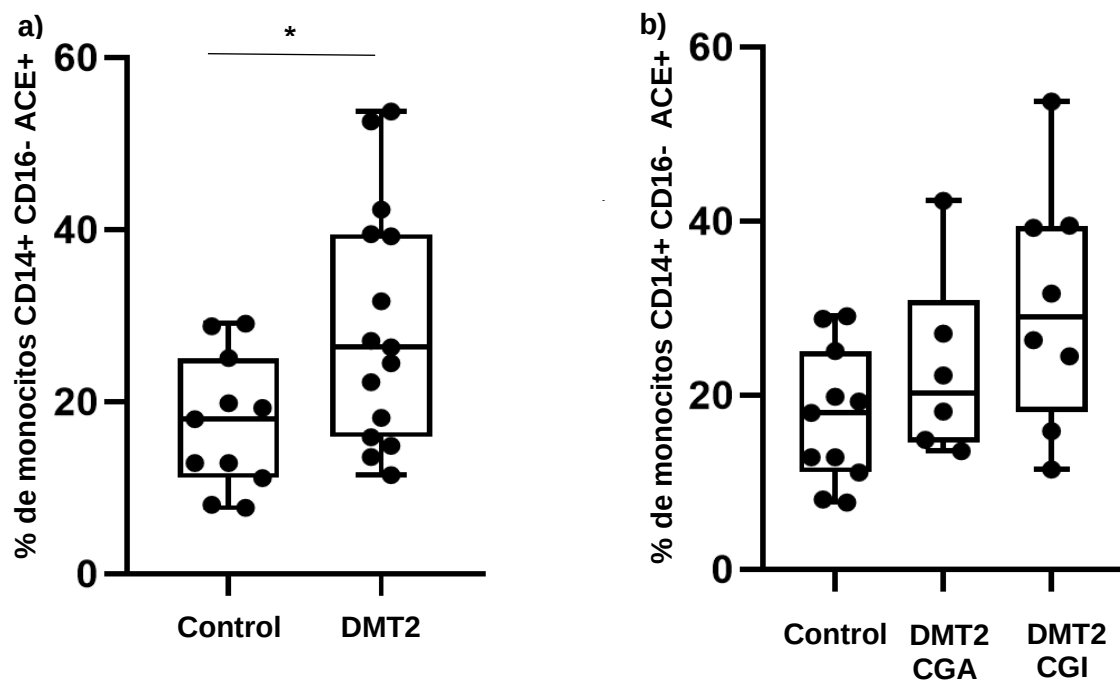


Figura 7. Porcentaje de monocitos CD14+ CD16- ACE+ de individuos control y pacientes con DMT2. a) Se muestra la comparación entre la expresión de ACE en los grupos de individuos control, sujetos con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2 CGA) y sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2 CGI). b) Comparación de la expresión de ACE en individuos control y sujetos con DMT2. Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney; tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Intensidad Media de Fluorescencia de ACE de monocitos clásicos de individuos control y sujetos con DMT2.

Para determinar la variación en la expresión de ACE por célula, se realizó una evaluación de la Intensidad Media de Fluorescencia (IMF) de ACE en la subpoblación de monocitos clásicos en sujetos control y sujetos con DMT2. Se observa una tendencia al incremento en los grupos de sujetos con DMT2 en comparación con el grupo control (**Fig. 8**), sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estas comparaciones.

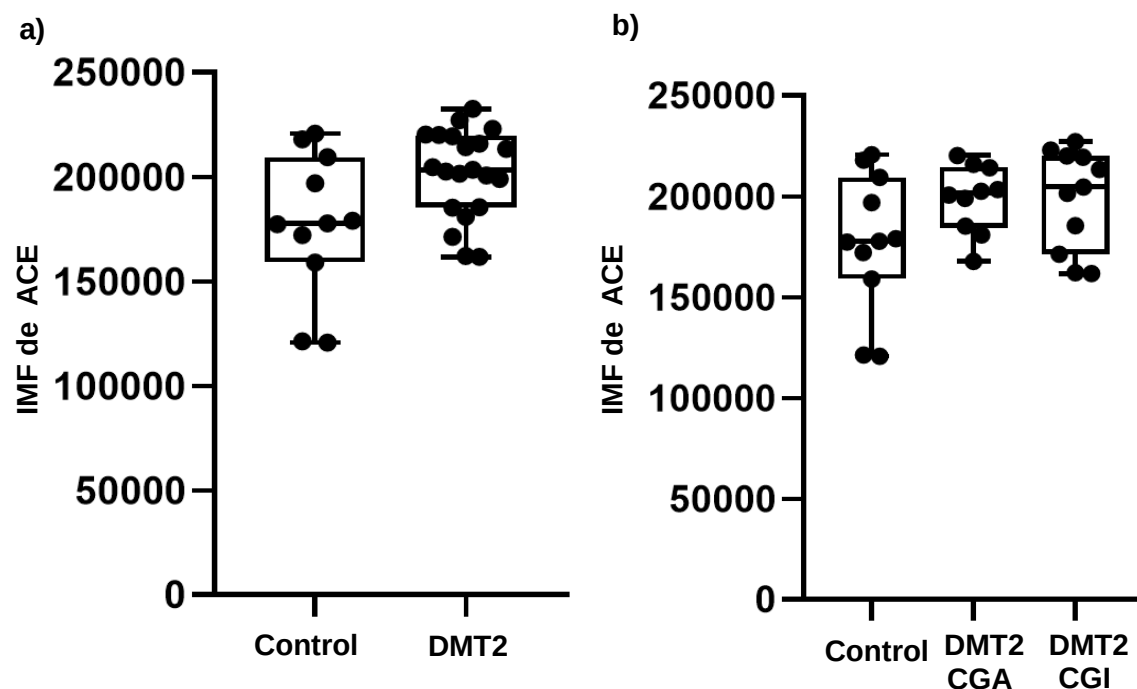


Figura 8. Intensidad Media de Fluorescencia de ACE en monocitos clásicos de individuos control y pacientes con DMT2. a) Comparación de la IMF de ACE en individuos control y sujetos con DMT2. ($p= 0.0699$) b) Se muestra la comparación entre la IMF de ACE en los grupos de individuos control, sujetos con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2 CGA) y sujetos con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2 CGI) ($p=0.1875$). Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para las comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney.

Actividad enzimática de ACE de monocitos clásicos determinada mediante la producción de ANG II.

Se estimó la actividad enzimática de ACE por medio de la cuantificación de Ang II presente en los sobrenadantes de un cultivo celular de monocitos clásicos incubados con el péptido Ang I como sustrato de dicha enzima, la producción de Ang II nos indica la actividad de ACE al hidrolizar Ang I a Ang II. Se observa una tendencia al incremento en la producción de Ang II en los grupos de pacientes con DMT2, siendo significativamente mayor en el grupo de DMT2, conjunto, en comparación con el grupo de individuos control (**Fig. 9a**) ($p<0.0320$). Además, existe un incremento significativo al comparar los tres grupos de estudio ($p<0.0416$) (**Fig. 9b**).

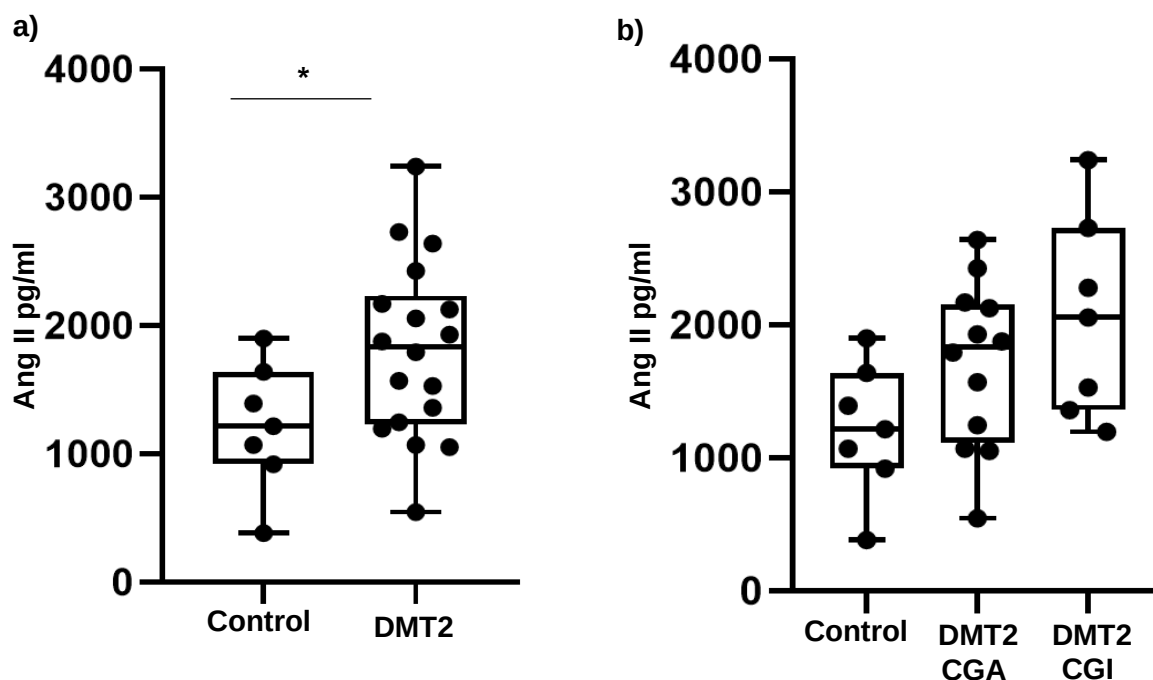


Figura 9. Actividad de ACE determinada por la conversión de Ang I a Ang II en cultivo de monocitos clásicos. Cultivo de monocitos clásicos con Ang I como sustrato y Ang II como producto, cuantificado por ELISA. a) Comparación de la producción de Ang II de la ACE presente en monocitos clásicos de pacientes con DMT2 en comparación con individuos control, con un incremento en el grupo de DMT2. b) Se muestra la comparación entre la concentración de Ang II producida por la ACE presente en los monocitos clásicos de pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado, pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado e individuos control. Los datos se presentan con la mediana como medida de tendencia central y con rangos intercuartílicos como medida de dispersión. La comparación entre los tres grupos se realizó por la prueba de Kruskal-Wallis y para las comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney; tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Expresión relativa de los genes ACE, AT1R y MasR en monocitos clásicos de sujetos con DMT2 con distinto control glucémico e individuos control.

Con el propósito de completar la evaluación en la expresión, se determinó la expresión génica para identificar posibles alteraciones a nivel transcripcional. Se evaluó la expresión relativa de los genes ACE, AT1R Y MasR en monocitos

clásicos, esto mediante RT-qPCR y expresado de manera relativa utilizando el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$, utilizando β -actina como gen de referencia para la normalización y tomando como referencia la expresión del grupo control. Posteriormente, se comparó la expresión génica entre individuos sanos (grupo control) y pacientes con DMT2. Los genes seleccionados para su evaluación, representan componentes clave de los principales ejes del sistema renina-angiotensina; ACE codifica la enzima convertidora de angiotensina 1, la cual es responsable de la producción de Ang II, que tiene como receptor a AT1R, el cual es codificado por el gen AT1R, llevando a cabo una respuesta proinflamatoria, sin embargo, la Ang II puede ser degradada a Ang I-VII, que tiene como receptor a MasR, codificado por el gen MasR.

Expresión génica relativa de ACE

Al comparar la expresión relativa de ACE entre los tres grupos de estudio, se identificó una disminución significativa de la expresión de ACE en el grupo de DMT2 con control glucémico adecuado con respecto al grupo control ($p < 0.0217$) (**Fig. 10b**). Por otra parte, la comparación entre el grupo control y el grupo de DMT2 en conjunto, mostró diferencias significativas ($p < 0.0067$) (**Fig. 10a**). Estos resultados sugieren que la DMT2 se asocia con una disminución de ACE a nivel transcripcional.

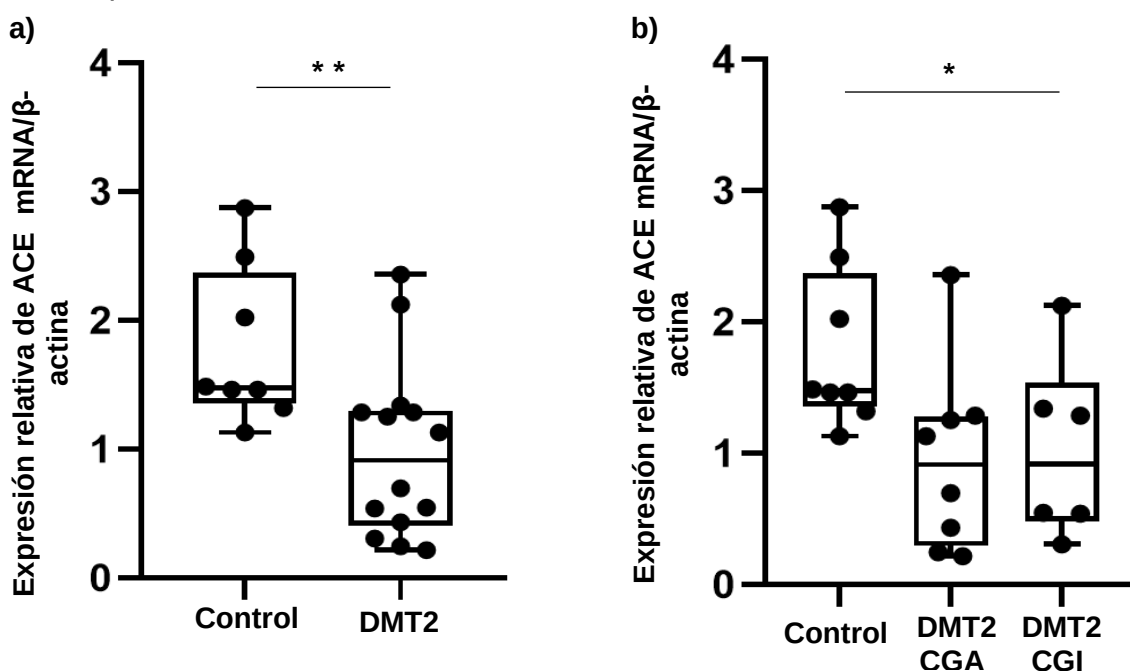


Figura 10. Expresión génica relativa de ACE en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Expresión génica de AT1R

La expresión relativa del gen AT1R no mostró diferencias significativas en la comparación entre los grupos evaluados (Fig. 11).

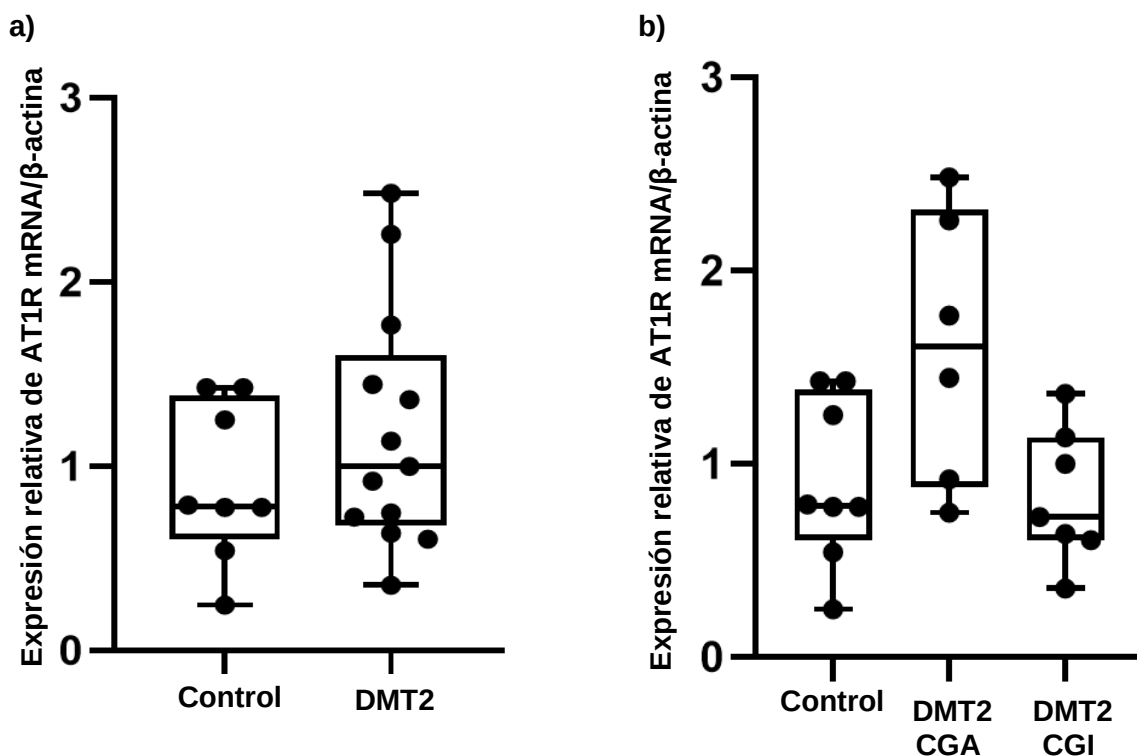


Figura 11. Expresión génica relativa de AT1R en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Expresión génica de MasR

La expresión relativa de MasR, al comparar el grupo de individuos DMT2 con el grupo de individuos control, se ve incrementada significativamente en los pacientes con DMT2 ($p < 0.0245$) (Fig. 12a). Por otra parte, al llevar a cabo la comparación entre los tres grupos, se observa diferencia significativa entre el grupo de individuos con DMT2 con control glucémico adecuado, respecto al grupo control. (Fig. 12b).

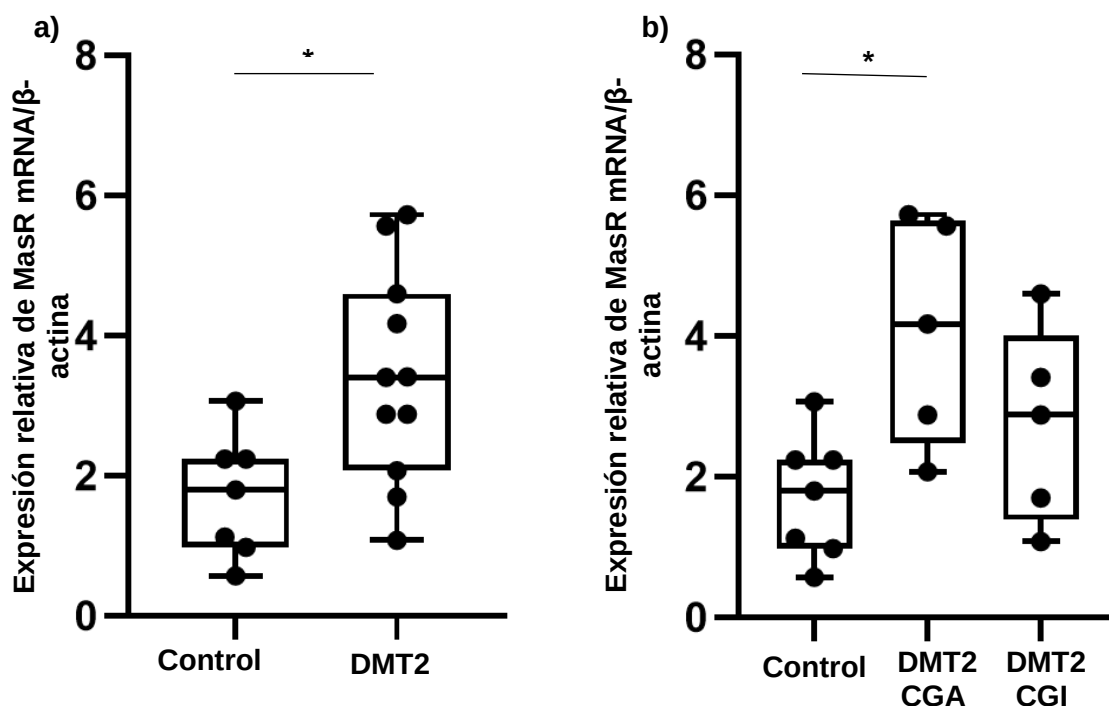


Figura 12. Expresión génica relativa de MASR en monocitos clásicos de individuos sanos y pacientes con DMT2. La expresión génica de ACE se determinó mediante RT-qPCR y se normalizó usando β -actina como gen de referencia. a) Comparación de la expresión génica entre el grupo de individuos control y el grupo de pacientes con DMT2. b) Comparación de la expresión entre el grupo control, pacientes con DMT2 con control glucémico adecuado (DMT2-CGA) y pacientes con DMT2 con control glucémico inadecuado (DMT2-CGI). Los datos en los gráficos se presentan como mediana y rango intercuartílico; cada punto representa un individuo. Las diferencias entre grupos se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney para comparar dos grupos y la prueba de Kruskal-Wallis para tres grupos; tomando como valor significativo $p < 0.05$.

Correlación del porcentaje de monocitos clásicos ACE+ y de la expresión génica relativa de ACE, AT1R y MasR con parámetros bioquímicos y antropométricos.

Se realizó un análisis de correlación de Spearman entre la actividad de ACE, indicada por la cantidad de Ang II producida en el ensayo de actividad y la expresión génica relativa de ACE, AT1R, MasR con parámetros antropométricos y metabólicos relacionados al control glucémico, esto con la finalidad de determinar la asociación de la expresión de componentes del RAS con el estado metabólico de los participantes. Dentro de las correlaciones esperadas se encuentran las siguientes: IMC e ICC ($\rho = 0.35$), GAA con HOMA-IR ($\rho = 0.52$), GAA con HOMA- β ($\rho = -0.52$), GAA con TyG ($\rho = 0.88$), GAA con HbA1c ($\rho = 0.90$), GAA con insulina ($\rho = 0.21$), insulina con HOMA-IR ($\rho = 0.92$), insulina con HOMA- β ($\rho = 0.64$), insulina con TyG ($\rho = 0.19$) e insulina con HbA1c ($\rho = 0.24$), HOMA-IR con HOMA- β ($\rho = 0.34$), HOMA-IR con TyG ($\rho = 0.47$), HOMA-IR con HbA1c ($\rho = 0.50$), HOMA- β con TyG ($\rho = -0.44$), HOMA- β con HbA1c ($\rho = -0.43$) y TyG con HbA1c ($\rho = 0.79$). En cuanto a las correlaciones de interés, la expresión relativa de ACE presentó correlaciones negativas con ICC ($\rho = -0.23$), insulina ($\rho = -0.22$), HOMA-IR ($\rho = -0.26$) y HbA1c ($\rho = -0.28$). Por otra parte, la expresión relativa de AT1R mostró correlaciones positivas con insulina ($\rho = 0.32$), HOMA- β ($\rho = 0.32$) y HOMA-

IR ($\rho = 0.22$), así como con la expresión relativa de MasR ($\rho = 0.38$). La expresión relativa de MasR presentó correlaciones positivas con GAA ($\rho = 0.25$), insulina ($\rho = 0.26$), HOMA-IR ($\rho = 0.29$) y AT1R ($\rho = 0.38$), mientras que mostró una correlación negativa con HDL ($\rho = -0.40$). y también se obtuvo una asociación negativa del ICC e IMC con las concentraciones de Ang II producidas por el ensayo de actividad de ACE ($\rho = -0.57$ y $\rho = -0.25$, respectivamente) y de Ang II con ACE mRNA ($\rho = -0.22$) (Fig. 13).

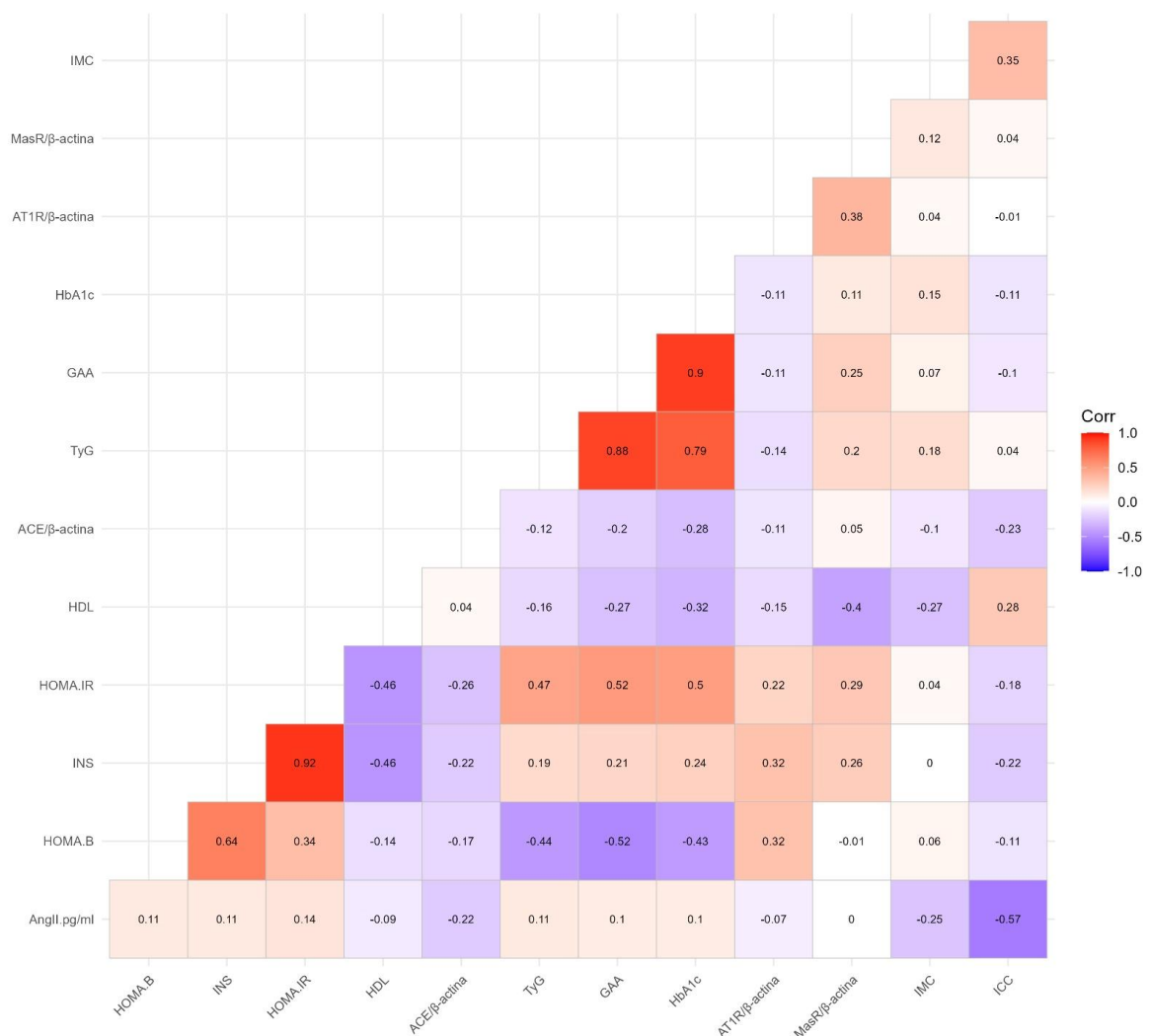


Figura 13. Matriz de correlación de Spearman entre parámetros metabólicos y antropométricos con la expresión y actividad de ACE de los participantes del estudio. Se evaluó la asociación entre el porcentaje de monocitos clásicos

ACE+, la expresión génica relativa de ACE, AT1R, MasR, así como las concentraciones de Ang II producidas y parámetros antropométricos y metabólicos: Glucosa en ayuno (GAA), Insulina sérica (INS), lipoproteína de alta densidad (HDL), hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c), Índice de Masa Corporal (IMC), Índice Cintura Cadera (ICC), Homeostatic Model Assesment of insulin Resistance (HOMA-IR), Homeostatic Model Assesment of β -cell function (HOMA- β), Índice Triglicéridos-glucosa (TyG) y Metabolic Score for Insuline Resistance (METS-IR). Cada celda de la matriz, corresponde y muestra el coeficiente de correlación entre dos variables. Los tonos azules inidcan correlaciones positivas y el color rojo indica asociación negativa, mientras que la intensidad del color nos indica la magnitud de la correlación.

DISCUSIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad multifactorial, caracterizada por alteraciones como la inflamación crónica de bajo grado (Lu et al., 2023; Yu et al., 2025). Por lo cual, células del sistema inmunológico, tales como los monocitos clásicos, son relevantes debido a su papel en la respuesta inflamatoria. En el presente estudio, se observó una variación en la distribución del porcentaje en la subpoblación monocítica clásica en pacientes con DMT2, observamos como el porcentaje de monocitos clásicos (CD14+ CD16-) disminuye en los grupos de sujetos con DMT2, siendo estadísticamente significativa entre el grupo de DMT2 con control glucémico inadecuado en comparación con el grupo control; tales hallazgos concuerdan con distintos estudios en los que se ha reportado una menor frecuencia de monocitos clásicos en sujetos con DMT2 y además de una correlación negativa con la HbA1c como parámetros de control glucémico, sugiriendo que un mal control glucémico favorece este tipo de alteraciones en las subpoblaciones monocitarias (Mao et al., 2025; Valtierra-Alvarado et al., 2020). Mientras que se ha visto como la proporción de monocitos CD16+ incrementa conforme aumenta la HbA1c (Jagannathan et al., 2019), los cuales favorecen la producción de mediadores proinflamatorios como TNF- α , IL-1 β , IL-6, etc (Mukherjee et al., 2015), Por lo cual, un estado de mal control glucémico puede incrementar el porcentaje de las subpoblaciones intermedia y no clásica. Aunque

inicialmente, se contempló la evaluación de la expresión de ACE en las tres subpoblaciones de monocitos, durante la estandarización experimental, se observó una elevada variabilidad tanto en la expresión de ACE, como en la distribución porcentual de las subpoblaciones intermedia y no clásica, es decir, en algunos individuos fue indetectable, mientras que en otros se observaban porcentajes de expresión elevados. Esta variabilidad, además del reducido número de eventos que se adquirirían, comprometían la reproducibilidad del experimento y el análisis.

Es por ello, que nos centramos en la expresión de ACE en monocitos clásicos, en donde encontramos un incremento significativo del porcentaje de monocitos clásicos ACE+ en el grupo de DMT2 en comparación con el grupo control y una tendencia al incremento entre el grupo de DMT2 con control glucémico inadecuado y el grupo de individuos control, pero sin alcanzar la significancia estadística. Tales resultados sugieren que en la DMT2 se presenta un incremento de monocitos clásicos ACE+; estudios previos han demostrado que la diabetes se asocia con alteraciones en el sistema renina-angiotensina a nivel celular, se ha observado un incremento de ACE y Ang II (Tonon et al., 2022), sugiriendo una activación de este eje, el cual puede promoverse por el estado de hiperglucemia crónica, ya que dicha alteración promueve la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), los cuales al interactuar con su receptor activan diversas vías de señalización como NF- κ B, dando como resultado un incremento en la producción de citocinas proinflamatorias, especies reactivas de oxígeno (ROS) y mediadores relacionados a la activación celular (Devaraj et al., 2005; Sampson et al., 2003; Schulze et al., 2004). Además, en estudios anteriores han asociado directamente la sobreexpresión de ACE en monocitos con un fenotipo proinflamatorio (Ulrich et al., 2011), Debido a que el porcentaje de monocitos clásicos ACE+ se vio incrementado en los grupos de DMT2, se evaluó posteriormente si este aumento también se reflejaba en la cantidad de ACE expresada por cada célula individualmente. Para esto, se determinó la intensidad media de fluorescencia (IMF) de ACE en los monocitos clásicos y aunque se observó una tendencia al incremento de la IMF en los pacientes con DMT2, dichas diferencias no alcanzaron la significancia estadística, lo cual nos sugiere que el

principal cambio asociado a la DMT2 podría estar relacionado solo a la proporción de monocitos que expresan ACE, es decir, a nivel poblacional, más que con el incremento de la proteína en cada célula.

Si bien, la evaluación de la expresión de ACE nos permitió identificar un incremento en la proporción de monocitos clásicos ACE+ en pacientes con DMT2, sin embargo, la presencia de la enzima no nos refleja la capacidad funcional, por lo tanto, determinamos la actividad mediante la cuantificación de Ang II producida por ACE presente en monocitos clásicos cultivados con Ang I; de este modo, si la enzima se encuentra activa, va a llevar a cabo mayor producción de Ang II a partir de la Ang I. Los resultados nos mostraron un incremento de la actividad en los grupos de pacientes con DMT2, siendo significativamente estadístico en el grupo de DMT2 con respecto al grupo control y en el grupo de DMT2 con control glucémico inadecuado respecto al grupo control, al realizar la comparación múltiple. Por lo cual, en conjunto, nuestros resultados sugieren que los monocitos clásicos de pacientes con DMT2 presentan una mayor participación del eje ACE/Ang II, lo cual es evidenciado por el incremento de ACE en la expresión proteica en mayor porcentaje de monocitos clásicos y por una mayor capacidad de esta para generar Ang II a partir de su sustrato fisiológicamente conocido, Ang I. Dicho incremento puede relacionarse a la sobre activación del sistema renina-angiotensina inducida por el estado glucémico, tal efecto ha sido descrito en estudios anteriores, en donde demuestran que los pacientes con DMT2 y peor control glucémico presentan una mayor actividad del sistema renina angiotensina, sugiriendo que la exposición prolongada a concentraciones elevadas de glucosa favorece la activación del eje clásico ACE/Ang II (Nakatani et al., 2014). De igual forma, se ha demostrado que niveles elevados de glucosa favorecen, principalmente, la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), la activación de NF- κ B y la producción de citocinas proinflamatorias (Vinagre et al., 2014), lo cual genera un ambiente capaz de estimular la expresión y actividad del RAS en células monocíticas, esto se ha visto relacionado a llevar a cabo activación celular. Estudios anteriores han reportado que la exposición de monocitos a Ang II, induce la expresión del factor tisular (TF), una molécula clave en procesos inflamatorios y protrombóticos, además, también se asoció a una fosforilación y

una posterior degradación del inhibidor de kappa B alfa, favoreciendo la activación de NF- κ B (He et al., 2006), amplificando así la respuesta inflamatoria ya presente en esta enfermedad.

Por lo tanto, la presencia incrementada de monocitos clásicos ACE+ podría favorecer la producción local de Ang II y esta, una respuesta inflamatoria a través de su receptor que promueve una activación de vías de señalización que llevan a una respuesta proinflamatoria, al igual que una diferenciación a macrófagos tipo 1 (M1) que presentan una actividad proinflamatoria. (Barhoumi et al., 2023; Bueno et al., 2023; Trojanowicz et al., 2014). Por ello, nuestros resultados sugieren un incremento del eje ACE/Ang II, visto por la expresión de ACE en monocitos clásicos.

Posteriormente, evaluamos la expresión de los genes, ACE, AT1R Y MasR, con el objetivo de seguir evaluando la expresión de componentes del RAS y explorar posibles alteraciones transcripcionales en estos genes, ya que, codifican componentes del RAS que participan en los dos de los principales ejes funcionales de dicho mecanismo. Los resultados demostraron que el estado glucémico modifica diferencialmente la expresión de los genes evaluados; se observó una disminución significativa en la expresión relativa de ACE en pacientes con DMT2 respecto al grupo de individuos sanos; por otra parte, la expresión de AT1R no mostró diferencias significativas entre los grupos evaluados, sin embargo, se observó una tendencia al incremento; en contraste, la expresión génica de MasR mostró un incremento significativo en los pacientes con DMT2, particularmente se observa en aquellos con control glucémico adecuado. A primera vista, la disminución de ACE puede parecer contradictorio con la activación proinflamatoria descrita anteriormente, sin embargo, es importante considerar que la expresión génica no representa la expresión a nivel proteína, ya que existen mecanismos transcripcionales y traduccionales capaces de modular la expresión final de la proteína; además, la discrepancia entre la disminución en la expresión génica relativa de ACE y el incremento en el porcentaje de monocitos clásicos ACE+, así como la tendencia al incremento de la IMF, pueden relacionarse a una retroalimentación negativa, podría decirse, autocrina; ya que, en estudios como en el de Schunkert y colaboradores, demostraron por primera vez cómo la Ang II

regula por retroalimentación negativa la cantidad de ACE ARNm (Schunkert et al., 1993). Esta interpretación se refuerza por la asociación negativa entre el nivel de Ang II en pg/ml producido en el ensayo de actividad, con la expresión de ACE a nivel de ARNm, así como la expresión de ACE mRNA con parámetros del estado y severidad de la DMT2 como ICC, insulina sérica, HOMA-IR y HbA1c; obtenidas en la correlación de Spearman. La expresión de AT1R mostró una tendencia al incremento sin diferencia significativa entre los grupos de DMT2 respecto al grupo control.

Por otro lado, MasR demostró un incremento significativo en el grupo de pacientes con DMT2 respecto al grupo control; el receptor MasR, codificado por este gen, tiene como sustrato a la Ang I-VII, un péptido proveniente de la Ang II y catalizado por la ACE II, dicho receptor promueve mecanismos asociados con efectos vasodilatadores, antioxidantes y antiinflamatorios (Ferreira & Santos, 2005; Simões e Silva et al., 2013). Este se reconoce como el receptor principal del eje alterno ACE2/Ang I-VII/MasR, considerándose como el eje protector; ya que en estudios con modelos murinos knockout Mas, presentan fibrosis, disfunción cardíaca, aumento en la presión arterial y desarrollaron complicaciones metabólicas como DMT2 y dislipidemia (Santos et al., 2018), además, se ha demostrado que el aumento de Ang I-VII se ve relacionado con disminución en la activación de NADPH oxidasa, vasodilatación, disminución en la fosforilación de MAPK, ERK y JNK. (Dhaunsi et al., 2010; Mori et al., 2014; Shi et al., 2015). Por lo cual, el incremento observado en la expresión de MasR podría representar una respuesta adaptativa con la finalidad de limitar o contrarrestar el ambiente proinflamatorio favorecido por el incremento del eje ACE/Ang II, lo cual se ha relacionado ya que pacientes diabéticos libres de complicaciones microvasculares presentan una mayor expresión del eje ACE2/Ang I-VII/MasR, en comparación con pacientes con complicaciones, lo cual sugiere un posible papel protector de esta vía (Jarajapu et al., 2013) Tal interpretación, se ve reforzada por el análisis de correlación, en el que se demostró una asociación positiva entre la concentración de glucosa en ayuno, insulina sérica y HOMA-IR con la expresión transcripcional de MasR a, sugiriendo que un mayor grado de alteración metabólica y resistencia a la insulina se asocia con una mayor expresión del gen

transcriptor de este receptor, el cual ejerce una respuesta contraria al eje proinflamatorio (Ferreira & Santos, 2005; Simões e Silva et al., 2013). De igual forma, se observó una correlación positiva entre la expresión génica relativa de AT1R y MasR, lo cual indica que ambos receptores podrían regularse constantemente tras la activación del eje proinflamatorio.

Es importante señalar que nuestro estudio no incluyó la evaluación directa con marcadores inflamatorios, sin embargo, la evidencia obtenida demuestra que el grado de control glucémico se asocia con una regulación diferencial de las moléculas evaluadas en la subpoblación de monocitos clásicos. Considerando que estas células desempeñan un papel en la respuesta inmune, las alteraciones de estas, podrían verse implicadas en los procesos relacionados con la inflamación crónica de bajo grado característica de la DMT2, ya que se ha descrito cómo en pacientes con hiperglucemia, los niveles de activación de monocitos son más altos (Mokgalaboni et al., 2020), participando en la progresión de la enfermedad mediante la infiltración de células proinflamatorias. el deterioro progresivo de las células β del páncreas, además de la activación prolongada de dichas células del sistema inmunológico como respuesta a la hiperglucemia crónica, lo cual puede resultar en alteraciones en su función.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio, demostraron que la presencia de DMT2 incrementa el porcentaje de monocitos clásicos (CD14+ CD16-) ACE+, además, un control glucémico inadecuado, se asocia con una mayor actividad de esta enzima, reflejado en el aumento en la producción de Ang II, lo cual sugiere un incremento en la participación del eje ACE/Ang II en monocitos clásicos, promoviendo la activación de vías de señalización que llevan a cabo la producción de mediadores proinflamatorios, los cuales pueden contribuir al estado de inflamación crónica de bajo grado y, en general, a las alteraciones inmunometabólicas que promueven la progresión de la enfermedad. Además, se demostró un aumento en la expresión génica relativa de MasR en monocitos clásicos, lo que puede representar una respuesta compensatoria para contrarrestar los efectos proinflamatorios del eje ACE/Ang II.

1. BIBLIOGRAFÍA

1. Allen, A. M., Zhuo, J., & Mendelsohn, F. A. (1999). Localization of angiotensin AT1 and AT2 receptors. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 10 Suppl 11, S23-29.
2. American Diabetes Association. (2025). Glycemic Goals and Hypoglycemia: Standards of care in Diabetes-2025. *Diabetes care*, S128-S145.
<https://doi.org/10.23377/dc25-S006>
3. Barhoumi, T., Mansour, F. A., Jalouli, M., Alamri, H. S., Ali, R., Harrath, A. H., Aljumaa, M., & Boudjelal, M. (2023). Angiotensin II modulates THP-1-like macrophage phenotype and inflammatory signatures via angiotensin II type 1 receptor. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1129704.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1129704>
4. Barthson, J., Germano, C. M., Moore, F., Maida, A., Drucker, D. J., Marchetti, P., Gysemans, C., Mathieu, C., Nuñez, G., Jurisicova, A., Eizirik, D. L., & Gurzov, E. N. (2011). Cytokines tumor necrosis factor- α and interferon- γ induce pancreatic β -cell apoptosis through STAT1-mediated Bim protein activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(45), 39632-39643.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.253591>
5. Berbudi, A., Rahmadika, N., Tjahjadi, A. I., & Ruslami, R. (2020). Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System. *Current Diabetes Reviews*, 16(5), 442-449.
<https://doi.org/10.2174/1573399815666191024085838>
6. Böni-Schnetzler, M., & Meier, D. T. (2019). Islet inflammation in type 2 diabetes. *Seminars in Immunopathology*, 41(4), 501-513. <https://doi.org/10.1007/s00281-019-00745-4>

7. Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820. <https://doi.org/10.1038/414813a>
8. Bueno, V., Destro, P. H., Teixeira, D., & Frasca, D. (2023). Angiotensin Converting Enzyme 1 Expression in the Leukocytes of Adults Aged 64 to 67 Years. *JMIRx Med*, 4, e45220. <https://doi.org/10.2196/45220>
9. Cataño Cañizales, Y. G., Uresti Rivera, E. E., García Jacobo, R. E., Portales Perez, D. P., Yadira, B., Rodriguez Rivera, J. G., Amaro, R. G., Enciso Moreno, J. A., & García Hernández, M. H. (2018). Increased Levels of AIM2 and Circulating Mitochondrial DNA in Type 2 Diabetes. *Iranian Journal of Immunology: IJI*, 15(2), 142-155. <https://doi.org/10.22034/iji.2018.39378>
10. Chacón, M. R., Fernández-Real, J. M., Richart, C., Megía, A., Gómez, J. M., Miranda, M., Caubet, E., Pastor, R., Masdevall, C., Vilarrasa, N., Ricard, W., & Vendrell, J. (2007). Monocyte chemoattractant protein-1 in obesity and type 2 diabetes. Insulin sensitivity study. *Obesity*, 15(3), 664-672. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.578>
11. Cifuentes, M., Verdejo, H. E., Castro, P. F., Corvalan, A. H., Ferreccio, C., Quest, A. F. G., Kogan, M. J., & Lavandero, S. (2025). Low-Grade Chronic Inflammation: A Shared Mechanism for Chronic Diseases. *Physiology*, 40(1), 0. <https://doi.org/10.1152/physiol.00021.2024>
12. Citro, A., Campo, F., Dugnani, E., & Piemonti, L. (2020). Innate Immunity Mediated Inflammation and Beta Cell Function: Neighbors or Enemies? *Frontiers in Endocrinology*, 11, 606332. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.606332>
13. Devaraj, S., Venugopal, S. K., Singh, U., & Jialal, I. (2005). Hyperglycemia induces monocytic release of interleukin-6 via induction of protein kinase c-

- {alpha} and -{beta}. *Diabetes*, 54(1), 85-91.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.54.1.85>
14. Dhaunsi, G. S., Yousif, M. H. M., Akhtar, S., Chappell, M. C., Diz, D. I., & Benter, I. F. (2010). Angiotensin-(1-7) prevents diabetes-induced attenuation in PPAR-gamma and catalase activities. *European Journal of Pharmacology*, 638(1-3), 108-114. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.04.030>
 15. Dlodla, P. V., Mabhida, S. E., Ziqubu, K., Nkambule, B. B., Mazibuko-Mbeje, S. E., Hanser, S., Basson, A. K., Pheiffer, C., & Kengne, A. P. (2023). Pancreatic β -cell dysfunction in type 2 diabetes: Implications of inflammation and oxidative stress. *World Journal of Diabetes*, 14(3), 130-146.
<https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i3.130>
 16. Duncan, B. B., Schmidt, M. I., Pankow, J. S., Ballantyne, C. M., Couper, D., Vigo, A., Hoogeveen, R., Folsom, A. R., Heiss, G., & Atherosclerosis Risk in Communities Study. (2003). Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*, 52(7), 1799-1805. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.7.1799>
 17. Fakhoury, H. M. A., Elahi, M. A., Al Sarheed, S., Al Dubayee, M., Alshahrani, A., Zhra, M., Almassri, A., & Aljada, A. (2022). Gene Expression Profiling of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Type 2 Diabetes: An Exploratory Study. *Medicina*, 58(12), 1829. <https://doi.org/10.3390/medicina58121829>
 18. Ferreira, A. J., & Santos, R. a. S. (2005). Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 38(4), 499-507. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000400003>

19. Fu, J., Cui, Q., Yang, B., Hou, Y., Wang, H., Xu, Y., Wang, D., Zhang, Q., & Pi, J. (2017). The impairment of glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β -cells caused by prolonged glucotoxicity and lipotoxicity is associated with elevated adaptive antioxidant response. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 100, 161-167. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.016>
20. Giacco, F., & Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation Research*, 107(9), 1058-1070. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>
21. Griendling, K. K., Minieri, C. A., Ollerenshaw, J. D., & Alexander, R. W. (1994). Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation Research*, 74(6), 1141-1148. <https://doi.org/10.1161/01.res.74.6.1141>
22. Guzmán-Flores, J. M., & López-Briones, S. (2012). [Cells of innate and adaptive immunity in type 2 diabetes and obesity]. *Gaceta Medica De Mexico*, 148(4), 381-389.
23. Hameed, I., Masoodi, S. R., Mir, S. A., Nabi, M., Ghazanfar, K., & Ganai, B. A. (2015). Type 2 diabetes mellitus: From a metabolic disorder to an inflammatory condition. *World Journal of Diabetes*, 6(4), 598-612. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i4.598>
24. He, M., He, X., Xie, Q., Chen, F., & He, S. (2006). Angiotensin II induces the expression of tissue factor and its mechanism in human monocytes. *Thrombosis Research*, 117(5), 579-590. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2005.04.033>
25. Hirosumi, J., Tuncman, G., Chang, L., Görgün, C. Z., Uysal, K. T., Maeda, K.,

- Karin, M., & Hotamisligil, G. S. (2002). A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 420(6913), 333-336.
<https://doi.org/10.1038/nature01137>
26. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. (2025). *IDF Diabetes Atlas* (Diabetes Atlas No. 11). International Diabetes Federation.
<https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>
27. Jagannathan, R., Thayman, M., & Rao, S. R. (2019). Proinflammatory (CD14+CD16++) monocytes in type 2 diabetes mellitus patients with/without chronic periodontitis. *Dental Research Journal*, 16(2), 95-103.
28. Jarajapu, Y. P. R., Bhatwadekar, A. D., Caballero, S., Hazra, S., Shenoy, V., Medina, R., Kent, D., Stitt, A. W., Thut, C., Finney, E. M., Raizada, M. K., & Grant, M. B. (2013). Activation of the ACE2/angiotensin-(1-7)/Mas receptor axis enhances the reparative function of dysfunctional diabetic endothelial progenitors. *Diabetes*, 62(4), 1258-1269. <https://doi.org/10.2337/db12-0808>
29. Kapellos, T. S., Bonaguro, L., Gemünd, I., Reusch, N., Saglam, A., Hinkley, E. R., & Schultze, J. L. (2019). Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*, 10, 2035.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02035>
30. Kasper, D., Hauser, S., Jameson, J. L., Fauci, A. S., Longo, D. L., & Loscalzo, J. (2015). *Harrison Principios de Medicina Interna: Vol. 2* (19.^a ed.). McGraw-Hill Education.
31. Lapteva, N., Nieda, M., Ando, Y., Ide, K., Hatta-Ohashi, Y., Dymshits, G., Ishikawa, Y., Juji, T., & Tokunaga, K. (2001). Expression of renin-angiotensin system genes in immature and mature dendritic cells identified using human cDNA

- microarray. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285(4), 1059-1065. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5215>
32. León-Pedroza, J. I., González-Tapia, L. A., del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). [Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: From the molecular evidence to the clinical practice]. *Cirugia Y Cirujanos*, 83(6), 543-551. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.041>
33. Lieberman, J., & Sastre, A. (1980). Serum angiotensin-converting enzyme: Elevations in diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 93(6), 825-826. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-93-6-825>
34. Liu, Z. H., Chen, L. L., Deng, X. L., Song, H. J., Liao, Y. F., Zeng, T. S., Zheng, J., & Li, H. Q. (2012). Methylation status of CpG sites in the MCP-1 promoter is correlated to serum MCP-1 in Type 2 diabetes. *Journal of Endocrinological Investigation*, 35(6), 585-589. <https://doi.org/10.3275/7981>
35. Lu, S., Li, Y., Qian, Z., Zhao, T., Feng, Z., Weng, X., & Yu, L. (2023). Role of the inflammasome in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Immunology*, 14, 1052756. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1052756>
36. Luo, J., Ning, T., Li, X., Jiang, T., Tan, S., & Ma, D. (2024). Targeting IL-12 family cytokines: A potential strategy for type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 170, 115958. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115958>
37. Mahali, S., Raviprakash, N., Raghavendra, P. B., & Manna, S. K. (2011). Advanced glycation end products (AGEs) induce apoptosis via a novel pathway: Involvement of Ca²⁺ mediated by interleukin-8 protein. *The Journal of Biological*

- Chemistry*, 286(40), 34903-34913. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.279190>
38. Mao, Q.-Y., Ran, H., Hu, Q.-Y., He, S.-Y., Lu, Y., Li, H., Chai, Y.-M., Chu, Z.-Y., Qian, X., Ding, W., Niu, Y.-X., Zhang, H.-M., Li, X.-Y., & Su, Q. (2025). Impaired efferocytosis by monocytes and monocyte-derived macrophages in patients with poorly controlled type 2 diabetes. *World Journal of Diabetes*, 16(5), 101473. <https://doi.org/10.4239/wjd.v16.i5.101473>
 39. Marcovecchio, M. L., Lucantoni, M., & Chiarelli, F. (2011a). Role of Chronic and Acute Hyperglycemia in the Development of Diabetes Complications. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 13(3), 389-394. <https://doi.org/10.1089/dia.2010.0146>
 40. Marcovecchio, M. L., Lucantoni, M., & Chiarelli, F. (2011b). Role of chronic and acute hyperglycemia in the development of diabetes complications. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 13(3), 389-394. <https://doi.org/10.1089/dia.2010.0146>
 41. Maruo, S., Mori, K., Motoyama, K., Nakamura, M., Kawarabayashi, R., Kakutani, Y., Yamazaki, Y., Morioka, T., Shoji, T., Inaba, M., & Emoto, M. (2018). Correlation analysis of monocyte subsets and insulin resistance considering fetuin-A involvement in patients with type 2 diabetes. *Clinical and Translational Medicine*, 7(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s40169-018-0187-4>
 42. Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412-419. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
 43. Mokgalaboni, K., Dlodla, P. V., Nyambuya, T. M., Yakobi, S. H., Mxinwa, V., & Nkambule, B. B. (2020). Monocyte-mediated inflammation and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of pre-

- clinical and clinical studies. *JRSM Cardiovascular Disease*, 9, 2048004019900748.
<https://doi.org/10.1177/2048004019900748>
44. Mori, J., Patel, V. B., Ramprasath, T., Alrob, O. A., DesAulniers, J., Scholey, J. W., Lopaschuk, G. D., & Oudit, G. Y. (2014). Angiotensin 1-7 mediates renoprotection against diabetic nephropathy by reducing oxidative stress, inflammation, and lipotoxicity. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 306(8), F812-821. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00655.2013>
 45. Mukherjee, R., Kanti Barman, P., Kumar Thatoi, P., Tripathy, R., Kumar Das, B., & Ravindran, B. (2015). Non-Classical monocytes display inflammatory features: Validation in Sepsis and Systemic Lupus Erythematosus. *Scientific Reports*, 5, 13886. <https://doi.org/10.1038/srep13886>
 46. Nakatani, S., Ishimura, E., Naganuma, T., Nakatani, A., Ichii, M., Fukumoto, S., Mori, K., Emoto, M., Nakatani, T., & Inaba, M. (2014). Poor glycemic control and decreased renal function are associated with increased intrarenal RAS activity in Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 105(1), 40-46. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.019>
 47. Navarro-González, J. F., & Mora-Fernández, C. (2008). The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(3), 433-442. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007091048>
 48. Oguntibeju, O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: Examining the links. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 11(3), 45-63.
 49. Okamura, A., Rakugi, H., Ohishi, M., Yanagitani, Y., Takiuchi, S., Moriguchi, K., Fennessy, P. A., Higaki, J., & Ogihara, T. (1999). Upregulation of renin-

- angiotensin system during differentiation of monocytes to macrophages. *Journal of Hypertension*, 17(4), 537-545. <https://doi.org/10.1097/00004872-199917040-00012>
50. Olivares-Reyes, J. A., Arellano-Plancarte, A., & Castillo-Hernandez, J. R. (2009). Angiotensin II and the development of insulin resistance: Implications for diabetes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 302(2), 128-139.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.12.011>
 51. Park, J.-H., Shim, H.-M., Na, A.-Y., Bae, K.-C., Bae, J.-H., Im, S.-S., Cho, H.-C., & Song, D.-K. (2014). Melatonin prevents pancreatic β -cell loss due to glucotoxicity: The relationship between oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *Journal of Pineal Research*, 56(2), 143-153.
<https://doi.org/10.1111/jpi.12106>
 52. Poitout, V., & Robertson, R. P. (2002). Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes--a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*, 143(2), 339-342. <https://doi.org/10.1210/endo.143.2.8623>
 53. Pradhan, A. D., Manson, J. E., Rifai, N., Buring, J. E., & Ridker, P. M. (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*, 286(3), 327-334. <https://doi.org/10.1001/jama.286.3.327>
 54. Rahman, M. (1989). Dysentery and *Streptococcus pyogenes*. *The Journal of Infection*, 18(1), 91-92. [https://doi.org/10.1016/s0163-4453\(89\)93792-4](https://doi.org/10.1016/s0163-4453(89)93792-4)
 55. Robertson, R. P., Harmon, J., Tran, P. O. T., & Poitout, V. (2004). Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, 53 Suppl 1, S119-124. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2007.s119>
 56. Rutkowska-Zapała, M., Suski, M., Szatanek, R., Lenart, M., Węglarczyk, K., Olszanecki, R., Grodzicki, T., Strach, M., Gąsowski, J., & Siedlar, M. (2015a).

- Human monocyte subsets exhibit divergent angiotensin I-converting activity.
Clinical and Experimental Immunology, 181(1), 126-132.
<https://doi.org/10.1111/cei.12612>
57. Rutkowska-Zapała, M., Suski, M., Szatanek, R., Lenart, M., Węglarczyk, K., Olszanecki, R., Grodzicki, T., Strach, M., Gąsowski, J., & Siedlar, M. (2015b). Human monocyte subsets exhibit divergent angiotensin I-converting activity.
Clinical and Experimental Immunology, 181(1), 126-132.
<https://doi.org/10.1111/cei.12612>
58. Sampson, M. J., Davies, I. R., Braschi, S., Ivory, K., & Hughes, D. A. (2003). Increased expression of a scavenger receptor (CD36) in monocytes from subjects with Type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 167(1), 129-134.
[https://doi.org/10.1016/s0021-9150\(02\)00421-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9150(02)00421-5)
59. Santos, R. A. S., Sampaio, W. O., Alzamora, A. C., Motta-Santos, D., Alenina, N., Bader, M., & Campagnole-Santos, M. J. (2018). The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiological Reviews*, 98(1), 505-553.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2016>
60. Schulze, P. C., Yoshioka, J., Takahashi, T., He, Z., King, G. L., & Lee, R. T. (2004). Hyperglycemia promotes oxidative stress through inhibition of thioredoxin function by thioredoxin-interacting protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(29), 30369-30374. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400549200>
61. Schunkert, H., Ingelfinger, J. R., Hirsch, A. T., Pinto, Y., Remme, W. J., Jacob, H., & Dzau, V. J. (1993). Feedback regulation of angiotensin converting enzyme activity and mRNA levels by angiotensin II. *Circulation Research*, 72(2), 312-318.

<https://doi.org/10.1161/01.res.72.2.312>

62. Semis, M., Gugiu, G. B., Bernstein, E. A., Bernstein, K. E., & Kalkum, M. (2019).

The Plethora of Angiotensin-Converting Enzyme-Processed Peptides in Mouse Plasma. *Analytical Chemistry*, 91(10), 6440-6453.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03828>

63. Shi, Y., Lo, C.-S., Padda, R., Abdo, S., Chenier, I., Filep, J. G., Ingelfinger, J. R.,

Zhang, S.-L., & Chan, J. S. D. (2015). Angiotensin-(1-7) prevents systemic hypertension, attenuates oxidative stress and tubulointerstitial fibrosis, and normalizes renal angiotensin-converting enzyme 2 and Mas receptor expression in diabetic mice. *Clinical Science*, 128(10), 649-663.

<https://doi.org/10.1042/CS20140329>

64. Simões e Silva, A. C., Silveira, K. D., Ferreira, A. J., & Teixeira, M. M. (2013).

ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *British Journal of Pharmacology*, 169(3), 477-492.

<https://doi.org/10.1111/bph.12159>

65. Singh, R., Barden, A., Mori, T., & Beilin, L. (2001). Advanced glycation end-products: A review. *Diabetologia*, 44(2), 129-146.

<https://doi.org/10.1007/s001250051591>

66. Steckelings, U. M., Kaschina, E., & Unger, T. (2005). The AT2 receptor—A matter of love and hate. *Peptides*, 26(8), 1401-1409.

<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.03.010>

67. Tilg, H., & Moschen, A. R. (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine*, 14(3-4), 222-231.

<https://doi.org/10.2119/2007-00119.Tilg>

68. Tonon, F., Candido, R., Toffoli, B., Tommasi, E., Cortello, T., Fabris, B., & Bernardi, S. (2022). Type 1 diabetes is associated with significant changes of ACE and ACE2 expression in peripheral blood mononuclear cells. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 32(5), 1275-1282.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2022.01.029>
69. Trojanowicz, B., Ulrich, C., Seibert, E., Fiedler, R., & Girndt, M. (2014). Uremic conditions drive human monocytes to pro-atherogenic differentiation via an angiotensin-dependent mechanism. *PloS One*, 9(7), e102137.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102137>
70. Ulrich, C., Seibert, E., Heine, G. H., Fliser, D., & Girndt, M. (2011). Monocyte angiotensin converting enzyme expression may be associated with atherosclerosis rather than arteriosclerosis in hemodialysis patients. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 6(3), 505-511.
<https://doi.org/10.2215/CJN.06870810>
71. Valtierra-Alvarado, M. A., Castañeda Delgado, J. E., Ramírez-Talavera, S. I., Lugo-Villarino, G., Dueñas-Arteaga, F., Lugo-Sánchez, A., Adame-Villalpando, M. S., Rivas-Santiago, B., Enciso-Moreno, J., & Serrano, C. J. (2020). Type 2 diabetes mellitus metabolic control correlates with the phenotype of human monocytes and monocyte-derived macrophages. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 34(11), 107708. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107708>
72. van de Vyver, M. (2023). Immunology of chronic low-grade inflammation: Relationship with metabolic function. *The Journal of Endocrinology*, 257(1), e220271. <https://doi.org/10.1530/JOE-22-0271>
73. Vinagre, I., Sánchez-Quesada, J. L., Sánchez-Hernández, J., Santos, D., Ordoñez-

- Llanos, J., De Leiva, A., & Pérez, A. (2014). Inflammatory biomarkers in type 2 diabetic patients: Effect of glycemic control and impact of LDL subfraction phenotype. *Cardiovascular Diabetology*, 13, 34. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-13-34>
74. Volpe, C. M. O., Villar-Delfino, P. H., Dos Anjos, P. M. F., & Nogueira-Machado, J. A. (2018). Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death & Disease*, 9(2), 119. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0135-z>
75. *Waist circumference and waist-hip ratio: Report of a WHO expert consultation, Geneva, 8-11 December 2008*. (2011). World Health Organization.
76. Wang, X., Khaidakov, M., Ding, Z., Mitra, S., Lu, J., Liu, S., & Mehta, J. L. (2012). Cross-talk between inflammation and angiotensin II: Studies based on direct transfection of cardiomyocytes with AT1R and AT2R cDNA. *Experimental Biology and Medicine*, 237(12), 1394-1401. <https://doi.org/10.1258/ebm.2012.012212>
77. WHO Expert Committee on Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry (Ed.). (1995). *Physical status: The use and interpretation of anthropometry: report of a WHO Expert Committee*. World Health Organization.
78. Wu, H., Qu, S., Zhang, Y., Deng, J., Li, J., & Zhou, J. (2000). [The changes of serum angiotensin converting enzyme activity in Type 2 diabetes and its vascular complications]. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao = Journal of West China University of Medical Sciences = Huaxi Yike Daxue Xuebao*, 31(3), 373-375.
79. Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J. S., Tartaglia, L. A., & Chen, H. (2003). Chronic inflammation in fat

- plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1821-1830.
- <https://doi.org/10.1172/JCI19451>
80. Yamagishi, S., Nakamura, K., & Matsui, T. (2006). Advanced glycation end products (AGEs) and their receptor (RAGE) system in diabetic retinopathy. *Current Drug Discovery Technologies*, 3(1), 83-88.

<https://doi.org/10.2174/157016306776637555>

 81. Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., & Wang, H. (2014a). Monocyte and macrophage differentiation: Circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
 82. Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., & Wang, H. (2014b). Monocyte and macrophage differentiation: Circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
 83. Yang, J., Zhang, L., Yu, C., Yang, X.-F., & Wang, H. (2014c). Monocyte and macrophage differentiation: Circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>
 84. Yoon, J., Jung, D., Lee, Y., & Park, B. (2021). The Metabolic Score for Insulin Resistance (METS-IR) as a Predictor of Incident Ischemic Heart Disease: A Longitudinal Study among Korean without Diabetes. *Journal of Personalized Medicine*, 11(8), 742. <https://doi.org/10.3390/jpm11080742>
 85. Yu, Y.-S., Lee, D. S., Lim, J. H., & Lee, Y. J. (2025). Identifying potential

biomarkers for type 2 diabetes in the adipose tissue of older adults via multiple machine learning algorithms. *Scientific Reports*, 15(1), 44904.

<https://doi.org/10.1038/s41598-025-29141-9>

ANEXOS

Carta de consentimiento informado (CCI)

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN,
INVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE
INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (ADULTOS)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA

PARTICIPACIÓN EN

PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: Evaluación de los componentes del sistema renina-angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2

Fecha_____

Número de registro: R-2024-3301-033

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL ESTUDIO

Le invitamos a participar en el proyecto titulado: *Evaluación de los componentes del sistema renina-angiotensina (RAS) en leucocitos de pacientes con DMT2*, el cual tiene como justificación del estudio la evaluación de unas moléculas que se llaman ATG, ACE, ACE2, MasR, AT1R y AT2R que se expresan en las células del sistema inmune. Es posible que estas moléculas estén aumentadas lo cual podría contribuir con la gravedad de la enfermedad. Este estudio nos permitirá identificar un proceso que contribuye con la severidad de la DMT2.

PROCEDIMIENTOS

Si Usted llena los criterios de selección del estudio se le solicitará que nos done una muestra de sangre de aproximadamente 12 mL, (que equivale al volumen de 5 cucharaditas). En esta muestra de sangre se evaluarán las moléculas ATG, ACE, ACE2, MasR, AT1R y AT2R en las células de la sangre. Y se realizaran análisis clínicos para evaluar sus niveles de lípidos en sangre, de glucosa, de hemoglobina glucosilada. Asimismo, le tomaremos la medida de su talla y de peso. La muestra de sangre solo se tomará una vez.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS.

Los riesgos físicos de dar una muestra de sangre son los mismos que para aquellos de

cualquier toma de muestra de sangre de una vena. Usted puede experimentar dolor leve, moretones, irritación o enrojecimiento en el sitio de la punción o en casos extremos si se pone muy nervioso/a sentir que se desmaya. En casos muy raros puede desarrollarse una infección.

POSIBLES BENEFICIOS QUE RECIBIRA AL PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

En este estudio el posible beneficio para el paciente a corto plazo sería la entrega de los análisis clínicos. Asimismo, eventualmente se generará conocimiento de la patología de la DMT2. Usted no pagará algún costo al participar en este proyecto por estos estudios de laboratorio.

PARTICIPACIÓN O RETIRO

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Es decir, que, si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD.

La información que nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla/o (como su nombre) será guardada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad.

El equipo de investigadores, de la Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas del IMSS, Dra. Susana Patricia Villa de la Luna de la Unidad de Medicina Familiar N. 4 del IMSS y las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos que usted así lo desee. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o su bienestar (por ejemplo, si llegara a sufrir algún daño físico o si llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley.

Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, por ejemplo, no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será

protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos

DISPONIBILIDAD DE TRATAMIENTO MEDICO EN DERECHOHABIENTES: No aplica
BENEFICIOS AL TERMINO DEL ESTUDIO: Si bien los beneficios directos para usted pudieran no existir, los resultados del presente estudio contribuirán en la identificación de un proceso patológico que contribuye con la gravedad de la DMT2

EN CASO DE DUDAS Y ACLARACIONES RELACIONADAS CON EL ESTUDIO PODRA-DIRIGIRSE-A:

Investigador Responsable: Dra. Mariana Haydee García Hernández

Colaboradores: Dr. Bruno T. Rivas Santiago, Dr. Susana Patricia Villa de la Luna, Dra. Carmen Judith Serrano Escobedo, Enf. María Eunice Martínez Macias. M en C Flor Itzel Lira Hernández, C. Anahí Ortiz Jiménez, Dra. Edith Elena Uresti-Rivera, QFB Abraham Cárdenas Juárez y la Dra. Mariana Haydee García Hernández. Teléfonos: 01 492 92 2 60 19, en la Unidad de Investigación Biomédica-Zacatecas ubicada en Interior Alameda número 45, Col. Quebradilla.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité Local de Investigación en Salud sede Zacatecas con dirección en Interior de la Alameda Número 45, Zona Centro. CP. 98000. Teléfono 492 92 260 19. Email. mariana.garciah@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto	Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento
Testigo-1	Testigo-2
Nombre, dirección, relación y firma	Nombre, dirección, relación y firma