

112 19

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIVISION DE EDUCACION MEDICA E INVESTIGACION
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA
UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA EN INMUNOLOGIA E
INFECTOLOGIA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"

RESPUESTA INMUNE DE CITOCINAS TNF α , IL-6 E IL-10 EN
PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 E INFECCION
DE TEJIDOS BLANDOS CON DIFERENTES GRADOS
DE SEVERIDAD.

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE POSTGRADO
EN LA ESPECIALIDAD DE INFECTOLOGIA

P R E S E N T A :

DRA. SANDRA HERNANDEZ CID DE LEON

ASESORA:

DRA: GUADALUPE DE LOS ANGELES GARCIA ELORRIAGA

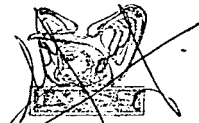
Guadalupe de los Angeles Garcia Elorriaga
Centro Medico "La Raza"
Hospital de Infectologia



IMSS

MEXICO, D. F.

FEBRERO DEL 2003



JEFATURA DE PLANEACION E
INVESTIGACION

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



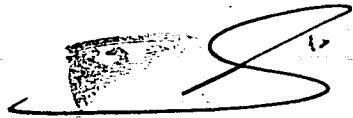
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

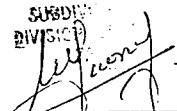
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

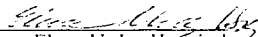
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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


HOJA DE FIRMAS





Dra. Guadalupe García Elorriaga
Asesor de Tesis

SUBDIRECCIÓN
DIVISIÓN

Dra. Verónica A. Gaona Flores
Jefe de Educación e Investigación en Salud.


Dra. Elena Urdez Hernández
Prof. Titular del Curso de
Infectología


Dr. José Luis Fuentes Allen
Jefe del servicio de Infectología
Adultos.


Dr. Manuel Pacheco Baezas
Director del H. Infectología
CMN "La Raza"

Dr. Cesar González Bonilla
Jefe de la Unidad de Investigación
Biomédica en Inmunología e Infecto-
logía CMNR.

CENTRO MÉDICO NACIONAL
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA
"Dr. Daniel Méndez Hernández"
21 FEB 2003
RECIBIDO
Coordinación de Educación
e Investigación en Salud

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Dedicatoria

A mis padres: Por su amor y apoyo incondicional.

A Ti Mace: Por tener siempre tu amor, comprensión y apoyo muy valioso para mí.

A Sandra Mariana: Por tu paciencia y por las horas que no pude estar contigo.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas •
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Sandra Hernández

Ciudad de León

FECHA: 26/02/03

FIRMA: 

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INVESTIGADORES:

Investigador Principal:

Dra. Guadalupe de los Ángeles García Elorriaga
Investigador asociado de la Unidad de investigación biomédica en inmunología e infectología.
Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández"
Centro Médico Nacional "La Raza"
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dr. Felipe González Velázquez.
Investigador Asociado de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología
Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández".
Centro Médico Nacional "La Raza".
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dr. José Luis Fuentes Allen
Jefe del Servicio de Infectología Adultos
Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández"
Centro Médico Nacional "La Raza".
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dr. Cesar González Bonilla.
Jefe de la Unidad de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología.
Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández".
Centro Médico Nacional "La Raza".
Instituto Mexicano del Seguro Social.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

Contenido	Páginas
Resumen.....	1
Título.....	2
Antecedentes.....	3
Planteamiento del problema.....	7
Objetivo.....	8
Hipótesis.....	9
Material y métodos.....	10
Criterios de inclusión.....	10
Variable independiente.....	11
Variables dependientes.....	13
Diseño.....	16
Descripción de estudio.....	17
Análisis estadístico.....	18
Resultados.....	19
Tablas y figuras.....	21
Discusión.....	29
Conclusiones.....	32
Bibliografía.....	33
Anexo 1.....	36
Anexo 2.....	37

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

RESPUESTA INMUNE DE CITOCINAS TNF α , IL-6 E IL-10 EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 E INFECCIÓN DE TEJIDOS BLANDOS CON DIFERENTES GRADOS DE SEVERIDAD. Hernández C; García E; González V; Fuentes A; González B.

Antecedentes: La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad metabólica heterogénea debida a un déficit de insulina o a una función inadecuada de la misma que produce hiperglucemia, la cual causa complicaciones a nivel micro y macrovascular incrementando así la morbi-mortalidad en estos pacientes y por lo tanto están predispuestos a muchas infecciones específicas más que los pacientes no diabéticos; además la hiperglucemia induce alteración en la quimiotaxis, fagocitosis y en los leucocitos y linfocitos; y probablemente a la estimulación de citoquinas pro-inflamatorias como TNF α , e IL-6 y probablemente de anti-inflamatorias como IL-10; como respuesta a procesos infecciosos agregados.

Objetivo: Determinar si la respuesta inmune de citoquinas TNF α , IL-6, IL-10 es diferente en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos con diferentes grados de severidad.

Diseño: Transversal comparativo

Lugar: Unidad de investigación biomédica en infectología del Hospital de Infectología CMN "La Raza" IMSS.

Material y Métodos: Se incluyeron pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos con diferentes grados de severidad de ambos géneros, mayores de 18 años de edad y que fueron atendidos en el HICMNR en el periodo de mayo a septiembre del 2002; a los cuales se les clasificó en base a su tipo de infección de tejidos blandos en una escala de leve, moderado o severo; además se les determinó, por medio del método de ELISA, niveles séricos de TNF α , IL-6 e IL-10 en las primeras 24 hrs. de su ingreso al hospital y los resultados fueron correlacionados con la severidad de la infección así como con la mortalidad de los pacientes. Secundariamente se consideraron variables como edad, tiempo de evolución de la diabetes mellitus y de la infección, el nivel de glucosa y de leucocitos e índice de masa corporal (IMC).

Resultados: Se estudiaron un total de 39 pacientes con DM tipo 2 e infección de tejidos blandos, 19 hombres y 20 mujeres con promedio de edad de 50.9 ± 9 años todos con algún tipo de infección de tejidos blandos encontrándose 6 infecciones leves, 9 moderadas y 24 severas; los días promedio de infección fueron 16.2 y los años promedio de evolución de la DM fueron de 8.2. Los niveles promedio de citoquinas fueron TNF α 34.1 ± 9.6 , IL-6 73.7 ± 86 e IL-10 35.7 ± 30.4 . Las infecciones severas se encontraron niveles de TNF α de 36.5 $p=0.74$; de IL-6 niveles promedio de 93.3 $p=.02$ e IL-10 tuvo niveles promedio de 33.7 $p=.82$. Los pacientes que fallecieron tuvieron los siguientes niveles promedio de citoquinas TNF α 37.1 $p=.05$, OR 2.5 IC 95% (1.6-10.5) la IL-6 fue de 99.6 $p=.11$ OR 3.2 IC 95% (1.8-13) y los niveles de IL-10 para los que fallecieron fueron de 39.3 $p=.73$ OR .97 IC (.21 - 4).

TESIS CON
PAIS DE ORIGEN

TITULO

**RESPUESTA INMUNE DE CITOCINAS TNF α , IL-6 E IL-10 EN PACIENTES
CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 E INFECCIÓN DE TEJIDOS BLANDOS DE
DIFERENTES GRADOS DE SEVERIDAD**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad metabólica heterogénea debida a un déficit de insulina o a una función inadecuada de la misma que produce hiperglucemia. la cual causa complicaciones a nivel micro y macrovascular incrementando así la morbi-mortalidad en pacientes con diabetes mellitus (1).

Esta enfermedad ha crecido y se ha convertido en un problema insospechable de salud pública: teniendo así una visión global de personas enfermas de diabetes mellitus que se ha estimado alrededor de 150 millones a 220 millones para el año 2010, el doble de personas reportadas en 1994 a nivel mundial: y más aún se estima que para el año 2025 habrá alrededor de 300 millones de personas mundialmente padeciendo diabetes mellitus. (2) Se ha estimado que aproximadamente el 7% de la población adulta en los Estados Unidos, o bien 8 millones de personas padecen de diabetes mellitus. Y a pesar de la progresión en la farmacología de nuevos agentes antidiabéticos, muchos enfermos de diabetes continúan padeciendo serias morbilidades relacionadas a esta enfermedad. Dentro de ellas las enfermedades infecciosas son las más comunes, ya que los diabéticos son susceptibles a infecciones por una gran variedad de razones (3). Por ejemplo, cuando estos pacientes desarrollan úlceras en miembros inferiores, cursan con pérdida de la sensación protectora (neuropatía severa) o bien cuando existen infecciones en otro tipo de tejidos, estas pueden ser el resultado de alteraciones vasculares, haciendo que exista una disminución en la perfusión tisular, provocando un incremento en la susceptibilidad para el daño a tejidos, por un empeoramiento en la habilidad para montar una respuesta inflamatoria adecuada (4,5).

La asociación entre diabetes mellitus y el incremento de la susceptibilidad a infecciones, en general, no están apoyadas por evidencias fuertes (6). Muchas infecciones específicas son más comunes en pacientes diabéticos que en los no diabéticos, y algunas otras ocurren exclusivamente en este tipo de pacientes o bien se presentan de forma más severa (3).

Diversos aspectos de la inmunidad están alterados en pacientes con diabetes mellitus. La función de leucocitos polimorfonucleares y linfocitos está deprimida, particularmente

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

cuando presentan acidosis: la adherencia de leucocitos, quimiotaxis y fagocitosis también se encuentran afectadas: el sistema antioxidante con actividad bactericida se encuentra alterado, los datos clínicos en la actividad humoral se encuentran limitados (6); Delamaire encontró una significativa disminución de quimiotaxis de neutrófilos en diabetes mellitus tipo 1 y 2. (3).

En la mayoría de las complicaciones macro y microvasculares en los tejidos de los pacientes diabéticos con inflamación secundaria a proceso infeccioso, las lesiones isquémicas o el traumatismo, pueden conducir a la exposición de antígenos propios que normalmente están aislados del sistema inmunitario. Estos antígenos secuestrados pueden no haber inducido auto-tolerancia. Por lo tanto se pueden liberar antígenos propios previamente aislados, que podrán interactuar con linfocitos inmunocompetentes e inducir respuestas inmunitarias específicas (7,8).

En casos de infecciones bacterianas, en forma general, se ha visto que existe inducción de la respuesta de macrófagos, y a su vez una respuesta de otras citocinas (TNF α , IL-1 beta). Esto conlleva a la producción de otras citocinas incluyendo IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, e IL-10 (8). Las infecciones bacterianas, específicamente en pacientes diabéticos, pueden producir grandes alteraciones a nivel tisular con efectos deletéreos para estos huéspedes; ya que la inflamación tisular secundaria a procesos infecciosos, pueden causar alteraciones estructurales en antígenos propios y la formación de nuevos determinantes capaces de inducir reacciones auto-inmunitarias (9,10). La inflamación puede dar lugar a la activación de los macrófagos por las citocinas, pero esta función puede estar deprimida, particularmente en casos de acidosis (5).

Otras citocinas pro-inflamatorias que se expresan en pacientes diabéticos con alguna infección son, factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina (IL) 6, e IL-8, así mismo las anomalías en monocitos/macrófagos, quimiotaxis y fagocitosis también han sido reportadas (3).

Por otro lado la hiperglucemia induce acumulación de productos finales de la glucosilación y de mediadores de inflamación, como la estimulación de TNF α , e IL-6 (11, 12,13). El TNF α es un producto de macrófagos activados, fue descubierto por su capacidad de causar necrosis de tumores en animales de laboratorio después de tratamiento con endotoxinas (5). El TNF α ha sido involucrado en algunas otras enfermedades de alteración

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

en el metabolismo como son intolerancia a la glucosa, dislipidemia, hiperuricemia e hipertensión (14, 15, 16, 17,18) así como resistencia a la insulina, obesidad y niveles de leptina en plasma (19,20, 21, 22, 23) También se ha asociado el TNF α con enfermedades autoinmunes tales como psoriasis (24) y pénfigo vulgar (25). Cirrosis biliar primaria, enfermedad inflamatoria intestinal (26, 27). El TNF α se ha asociado también a enfermedades infecciosas tales como sepsis (28, 29), melioidosis severa (30), mediastinitis (31), sepsis severa y falla orgánica múltiple (32); además la sepsis se acompaña de TNF circulante detectable en el 25% de los casos y la mortalidad es del doble en comparación con los pacientes TNF negativos (33).

Por otra parte se ha asociado la elevación moderada de IL-6 y TNF α con enfermedad abdominal aguda. Y también la elevación sola de IL-6 se ha relacionado con mayor mortalidad en pacientes de Unidades de cuidados intensivos y que cursaron con choque séptico (34, 35). No obstante, en modelos animales se ha evaluado el comportamiento de la infección de tejidos blandos polimicrobianas tratadas con antibióticos. TNF α e interferón gamma, se ha encontrado una reducción en la severidad de la infección (36).

Como es bien sabido, la IL-6 es una citocina pro-inflamatoria, producida por monocitos, macrófagos y células endoteliales, entre otros; y su producción y secreción es estimulada por varios factores, bacterias gram positivas, gram negativas, lipopolisacáridos, TNF α , IL-1 β , interferón gama y factor de crecimiento derivado de plaquetas. Durante la sepsis, la secreción de IL-6 es más probable que sea estimulada por endotoxinas, TNF α o IL-1 β , (37). La IL-6 es necesaria para iniciar una respuesta inflamatoria efectiva contra la infección, sin embargo su producción excesiva se ha relacionado con mayor severidad de la enfermedad y mortalidad. Pinsky y col. reportaron que los pacientes con choque séptico, en comparación con los no sépticos, tuvieron niveles séricos elevados de TNF α e IL-6; y la persistencia de la elevación de estas citocinas se relacionó con mal pronóstico. (38, 39).

La IL-10 junto con IL-12 son otras citocinas secretadas por macrófagos, en respuesta a productos bacterianos, siendo así que la IL-12 activa la citotoxicidad y la secreción de Interferón (INF) gama por células T y por células NK, mientras que la IL-10 inhibe dichas funciones. (40).

Charalambos A y col. Demostraron que tanto citocinas pro-inflamatorias como son TNF α , IL-6 IL-12 e interferón γ , así como las anti-inflamatorias como IL-10, receptor de factor

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de necrosis tumoral (sTNFR) I y II y el receptor de IL-1 soluble se encuentran elevadas a nivel plasmático en pacientes con sepsis severa; y que la elevación persistente de TNF α se asoció con muerte; además concluyen que la sobreproducción de IL-10 también fue asociada con muerte (41).

Por otro lado, en cuanto a la relación de IL-6 e IL-10 de pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y que fallecieron, Taniguchi y col. encontraron que las concentraciones de IL-6 gradualmente se incrementaban después de 2 días de estancia hospitalaria; en cambio las concentraciones de IL-10 eran decrecientes; y la proporción de niveles de IL-6 en comparación con IL-10 era mayor en pacientes con sepsis severa (42).

En modelos animales infectados con *Trypanosoma cruzi*, se ha experimentado administrando IL-10 deficiente y se ha encontrado reducción en parasitemia y un incremento de Interferón γ , IL-12 y sobreproducción de TNF α (43). Nosotros realizamos este trabajo porque nos interesaba conocer cual es el comportamiento de citoquinas como TNF α , IL-6 e IL-10 de los pacientes diabéticos tipo 2 con infección de tejidos blandos de diferentes grados de severidad atendidos en el Hospital de Infectología CMN "La Raza"; por tal motivo la realización de este trabajo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La incidencia de diabetes mellitus en pacientes adultos es una causa frecuente de morbi-mortalidad a nivel mundial debido a las complicaciones que conlleva esta enfermedad. dentro de ellas las más frecuentes son las secundarias a la alteración de la micro y macrovascularidad (2); otro tipo de complicaciones frecuentes son las enfermedades infecciosas y dentro de ellas, las de tejidos blandos son causa frecuente de internamiento en el Hospital de Infectología Centro Médico La Raza " Dr. Daniel Méndez Hernández" y en las cuales se invierte gran parte del presupuesto institucional, debido a la larga estancia intrahospitalaria y lo que esto conlleva.

Por otro lado, ya se ha mencionado que los pacientes con Diabetes mellitus cursan con un empeoramiento en la habilidad para montar una respuesta inflamatoria adecuada (4) (5); por ello es de nuestro interés conocer el estado inmunológico de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con infección de tejidos blandos que sean atendidos en el HICM "LA RAZA" determinando específicamente niveles de TNF α , IL-6 e IL-10 y conocer su relación con el pronóstico de severidad en las infecciones en tejidos blandos, ya que en la literatura se han encontrados estudios relacionados a respuesta inflamatoria en pacientes con sepsis, con enfermedades auto-inmunitarias, y otras enfermedades infecciosas (8) (9) (10), y poco se ha publicado acerca de la respuesta inflamatoria en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que cursan con infección de tejidos blandos. Cabe mencionar también que este es el primer estudio de este tipo realizado en este hospital.

¿Cuál es la respuesta inmune de citocinas (TNF α , IL-6, IL-10) en pacientes con diabetes Mellitus tipo 2 con infección de tejidos blandos de diferentes grados de severidad?

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

OBJETIVO

Determinar si la respuesta inmune de citocinas TNF α , IL-6, IL-10 es diferente en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos con diferentes grados de severidad.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

HIPOTESIS

La respuesta inmune de citocinas TNF α , IL-6, IL-10 es diferente de acuerdo al grado de severidad de la infección de tejidos blandos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MATERIAL Y MÉTODOS

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Se incluyeron pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y con algún tipo de infección de tejidos blandos de diferentes grados de severidad mayores de 18 años de edad, de ambos sexos y que se atendieron en el hospital de infectología CMNR en el periodo comprendido de mayo a septiembre del 2002.

CRITERIOS DE NO INCLUSION:

Pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con algún tipo de infección de tejidos blandos de diferentes grados de severidad mayores de 18 años de edad, de ambos sexos, pero que cursen con alguna coinfección como neumonía, infección de vías urinarias, tuberculosis infección por virus de inmunodeficiencia humana o hepatitis viral.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

Pacientes que no se les pudo tomar la muestra sanguínea o que esta fuera insuficiente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VARIABLE INDEPENDIENTE

Severidad de la infección de tejidos blandos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

DEFINICION CONCEPTUAL

INFECCIÓN DE TEJIDOS BLANDOS

La protección de la epidermis frente a la infección depende de la barrera mecánica proporcionada por el estrato córneo; la ruptura de esta barrera por quemaduras, abrasiones, mordeduras o cuerpos extraños permite la penetración de bacterias en las estructuras más profundas ocasionando así infección de tejidos blandos. Del mismo modo el folículo piloso puede servir de entrada a la flora normal o bacterias extrínsecas.

Se tomó la siguiente escala para clasificar la severidad de la infección de tejidos blandos (43).

LEVE: Ausencia y/o celulitis mínima

Salida mínima de material purulento

Ulceración superficial

Sin osteomielitis

MODERADO: Necrosis de piel y tejido celular subcutáneo leve

Salida de material purulento moderado

Celulitis

SEVERO: Ulceración profunda de tejidos

Salida de material purulento abundante

Celulitis

Necrosis Marcada /gangrena

Presencia o ausencia de osteomielitis

Bacteriemia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEFINICIÓN CONCEPTUAL

Se definió como infección leve, moderada y severa cuando se reunieron dos o más criterios de los arriba mencionados para cada categoría.

ESCALA DE MEDICIÓN

Cualitativa ordinal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VARIABLES DEPENDIENTES

Determinación sérica de citocinas (TNF α , IL-6, IL-10).

DEFINICIÓN CONCEPTUAL

El Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α), es una citocina potente producida en su mayoría por macrófagos activados, y es responsable de muchos efectos biológicos, entre los cuales se encuentran promover la necrosis de tumores, quimiotáxis, y actividad antimicrobiana para la mediación de la resistencia del huésped a agentes infecciosos.

La IL-6 es una citocina de aproximadamente 26 KD sintetizada de los fagocitos mononucleares, las células endoteliales vasculares, los fibroblastos y otras células en respuesta a la IL-1, y, en menor grado al TNF.

La IL-10 es una citocina de 18 kD producida por el subgrupo TH2 de las células cooperadoras CD4+. También es producida por algunas células B activadas, por algunas células TH1, por macrófagos no activados y por algunas células no linfocíticas. Sus actividades principales son inhibir la producción de citocinas (TNF, IL-1, quimiocinas e IL-2) por medio de macrófagos; además inhibe funciones accesorias de los macrófagos en la activación de las células T.

DEFINICIÓN OPERACIONAL

Se realizó la determinación de TNF α , IL-6 e IL-10 por medio de la técnica de ELISA.

Se tomaron los siguientes valores de corte para las citocinas:

- a) TNF α : de 15.8 pg/ml
- b) IL-6 : de 3.12 pg/ml
- c) IL-10: de 7.8 pg/ml

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los valores anteriormente mencionados fueron tomados del inserto de cada una de las pruebas

Cualquier valor superior a los anteriormente mencionados, para cada una de las citocinas, se consideró como nivel elevado de las mismas.

ESCALA DE MEDICIÓN

Cuantitativa, continua: pg/ml.

VARIABLES DE CONFUSIÓN

Edad, Tiempo de evolución de diabetes mellitus, presencia de Hipertensión arterial sistémica, obesidad, agente aislado en cultivo: y tratamiento antimicrobiano.

DEFINICIÓN CONCEPTUAL:

Hipertensión Arterial Sistémica: Se considerará hipertensión arterial sistémica a las cifras tensionales de presión sistólica \geq a 140 mmHg y determinación diastólica \geq a 90 mmHg. En por lo menos dos determinaciones en diferentes días.

Se consideró obesidad a las cifras de Índice de Masa Corporal (IMC) mayor de 27 kg/m².

DEFINICIÓN OPERACIONAL

Se tomaron del expediente clínico datos como: signos vitales, edad, sexo, peso y talla, diagnóstico, tiempo de evolución de la infección, tiempo de evolución de la diabetes mellitus, niveles sanguíneos de glucosa y leucocitos totales todos ellos al ingreso de los pacientes al hospital; posteriormente se recabaron resultados del germen aislado en el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

cultivo de la herida quirúrgica.

Todos los datos se recolectaron en una hoja de datos para cada uno de los pacientes. Anexo

1

ESCALA DE MEDICIÓN

Edad, Peso, talla: Cuantitativas continuas

Tensión arterial, Tiempo de evolución de diabetes mellitus: Cuantitativas discretas

Tipo de germen aislado: Cualitativa nominal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISEÑO

Estudio transversal comparativo.

LUGAR, HOSPITAL Y DEPARTAMENTO DONDE SE DESARROLLO EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

México D. F.

Instituto Mexicano del Seguro Social

Hospital de Infectología Centro Médico Nacional "La Raza"

"Dr. Daniel Méndez Hernández".

Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología.

TIEMPO DE REALIZACIÓN DEL ESTUDIO

Este estudio fue realizado del mes de abril del 2002 al mes de enero del 2003.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Para la determinación de los niveles sanguíneos de TNF α , IL-6 e IL-10 (Quantikine, RD SYSTEMS), se realizó la toma de una muestra sanguínea a los pacientes en el momento de ingresar al hospital o bien después de 24 hrs., la muestra fue recolectada en tubos secos, sin heparina y estériles, esta se dejó reposar por lapso de 15 minutos, posteriormente se procedió a despegar de las paredes del tubo el coagulo formado de la sangre con un hisopo de madera estéril; las muestras se centrifugaron a 3500 revoluciones por minuto, por lapso de 10 minutos y se separó el suero por medio de una pipeta desechable. Todas las muestras de suero fueron recolectadas cada una de ellas en alícuotas y se mantuvieron en congelación a una temperatura de -10°C . Cuando se terminaron de recolectar todas las muestras se procedió a descongelar las muestras a temperatura ambiente y se procedió a realizar la determinación de niveles de TNF α , IL-6, IL-10 por medio de la técnica de ELISA la cual se realizó de la siguiente forma:

En este tipo de ensayo se empleó la técnica de Inmunoensayo enzimático cuantitativo "sandwichs", donde un anticuerpo monoclonal específico para cada una de las citocinas ha sido pre- recubierto dentro de una microplaca. Los estándares y las muestras son colocadas dentro de sus paredes y cualquier citosina (TNF α IL-6 o IL-10) presente tiene un límite para la inmovilización del anticuerpo. Posteriormente se lava a distancia. Cualquier sustancia libre y una cadena de enzimas policlonales de anticuerpos específicos para cada una de las citocinas son adheridas a los anticuerpos. Se continúa con un nuevo lavado para remover algún anticuerpo enzimático libre. Una solución substrato se agrega a la pared de la microplaca y se desarrollan colores en proporción a la cantidad de citocinas límite en el paso inicial. El color desarrollado se detiene y la intensidad del color se mide por medio del lector de ELISA.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizaron medidas de dispersión para calcular promedios, desviación estándar y media de los valores de las citocinas: también se realizaron pruebas no paramétricas para la medir la asociación de la severidad de la infección de tejidos blandos con la elevación de los niveles de citocinas: y para grupos de 3 o más se utilizó ANOVA. Una $p < .05$ se consideró como significativa.

También se realizó el cálculo de OR con un intervalo de Confianza del 95% para correlacionar mortalidad con parámetros clínicos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

A todos los pacientes se les dio a firmar una carta de consentimiento informado Anexo 2.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

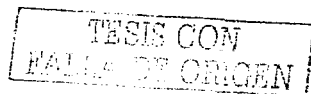
RESULTADOS

Se estudió un total de 39 pacientes, con diabetes mellitus tipo 2: 19 pacientes pertenecían al género masculino y 20 al género femenino con un promedio de edad de 50.9 ± 9 años y con algún tipo de infección de tejidos blandos: La infección de tejidos blandos se clasificó en leve, moderada y severa, encontrándose un total de 6 infecciones leves, 9 moderadas y 24 infecciones severas: el promedio del índice de masa corporal se calculó de 28.2 ± 6.1 Kg/m², el tiempo promedio de evolución de la diabetes mellitus fue de 8.2 años; y los días promedio de la evolución de la infección fueron de 16.2. Hubo un total de 15 (38.5%) defunciones y 24 (61.5%) pacientes sobrevivieron. (Tabla 1)

Se tomaron muestras sanguíneas en el momento de la fase aguda de la infección y, por medio del método de ELISA se determinaron niveles de TNF α , IL-6, IL-10, las cuales tuvieron niveles séricos promedio de 34.1 ± 9.6 , 73.7 ± 86 y 35.7 ± 30.4 , respectivamente. (Fig. 3). Al correlacionar la severidad de la infección con los valores promedio de las citocinas se encontró que el TNF α con infección leve tuvo un valor promedio de 28.8 ± 10.3 ; con infección moderada tuvo un valor promedio de 31 ± 9.4 , y con infección severa un valor promedio de 36.5 ± 9 $p = .074$. La IL-6 en infección leve tuvo un valor promedio de 3.1 ± 1.3 , en infección moderada 68.7 ± 80.1 y en infección severa se encontró un valor promedio de 93.3 ± 91 $p = .02$. La IL-10 en infección leve tuvo valores promedio de 41.3 ± 45.1 , en infección moderada tuvo valores promedio de 37.3 ± 21.6 y en infección severa de 33.7 ± 30.1 $p = 0.82$. (Tabla 2) (Fig. 1)

También se correlacionó la mortalidad con los niveles de citoquinas, encontrándose que los pacientes que sobrevivieron tuvieron niveles promedio de TNF α de 32.7 ± 9.7 y los que fallecieron tuvieron niveles promedio de 37.1 ± 9 $p = .05$; OR 2.5 IC 95% (.60 - 10.5), para IL-6 se encontraron niveles promedio de 57.6 ± 80.5 para los sobrevivientes y un promedio de 99.6 ± 90.9 para los que fallecieron, $p = .11$ OR 3.2 IC 95% (.80 - 13); por último para IL-10 los valores promedio para los pacientes que sobrevivieron fueron de 33.5 ± 27.9 y para los que fallecieron se encontraron valores promedio de 39.3 ± 34.7 $p = .73$ OR .97, IC 95% (.21 - 4). (Tabla 3) (Fig. 2).

También se correlacionaron variables como la edad, años de evolución de la diabetes, días de evolución de la infección, nivel de glucosa y de leucocitos, e índice de masa corporal.



con la severidad de la infección y se encontraron los siguientes resultados: en cuanto a la edad, el promedio de años para las infecciones leves fue de 45.5 ± 10.1 , para infecciones moderadas fueron de 48.8 ± 8.7 y para infecciones severas el promedio de edad fue de 53.1 ± 8.3 años $p = .27$; el promedio de años de evolución de la diabetes Mellitus fue de 9.2 ± 7.5 para infecciones leves, 3.3 ± 5 para infecciones moderadas y de 9.8 ± 9.2 para infecciones severas $P < .05$. El promedio de días de evolución de la infección fue de 8.8 ± 4.6 para infecciones leves y de 7.3 ± 4.1 y 21.5 ± 24.6 para infecciones moderadas y severas respectivamente $p = .06$; el nivel promedio de leucocitos encontrado fue de 12.050 ± 3.700 para infecciones leves, 12.300 ± 4.470 para infecciones moderadas y de 15.612 ± 6.212 para infecciones severas $p = .27$; el promedio del nivel de glucosa encontrado fue de 228 ± 134 , 222 ± 92 y 255 ± 149 para infecciones leves, moderadas y severas respectivamente $p = .85$; el promedio del índice de masa corporal fue de 25 ± 2.7 , 28.7 ± 3.7 y 28.7 ± 7.2 para las infecciones leves, moderadas y severas respectivamente (Tabla 4). Estas variables, anteriormente mencionadas, también fueron correlacionadas con la mortalidad de los pacientes, y se encontró que los años de diabetes mellitus, el nivel de leucocitos y el nivel de glucosa sanguínea en relación con la mortalidad tuvieron una $p < .05$, con OR (IC 95%) de 1.4 (.4- 5), 4.5 (1.2 -18) y 3.4 (.9-13) respectivamente, y las otras variables no tuvieron significancia estadística (Tabla 5).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1. Datos demográficos de pacientes con DM 2 e infección de tejidos blandos.

Características	Nivel	N= 39 (%)	Promedio ±DE
Edad	33-45 años	18 (46.2)	50.97 ±9
	46- 60	13 (33.3)	
	> 60	8 (20.5)	
Genero	Masculino	19 (48.7)	
	Femenino	20 (51.3)	
Nivel de glucosa mg/dl	60-160	10 (25.6)	243.5 ±133.8
	161-250	17 (43.6)	
	251-600	12 (30.8)	
Conteo de leucocitos	<15.000	24 (61.5)	14.300 ±5.678
	>15.000	15 (38.5)	
Días de evolución de Infección	< 7 días	20 (51.3)	16.2 ±20.5
	7-30 días	16 (41)	
	> 30 días	3 (7.7)	
Años de evolución de DM	0-5 años	22 (56.4)	8.2 ±8.5
	6-15	10 (25.6)	
	>15	7 (18)	
Hipertensión Arterial	Si	25 (64.1)	
	No	14 (35.9)	
Cultivo	SDB **	7 (18)	
	Gram positivo	6 (15.4)	
	Gram negativo	25 (64.1)	
	Hongo	1 (2.5)	
Indice de masa corporal Kg/m²	20-25	12 (30.8)	28.2 ± 6.1
	> 25-29	16 (41)	
	30 ó más	11 (28.2)	
Sobrevida	Sobrevivieron	24 (61.5)	
	Fallecieron	15 (38.5)	

* Desviación estándar

** Sin desarrollo bacteriano

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Relación de la severidad de la infección con valores promedio de citoquinas de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos.

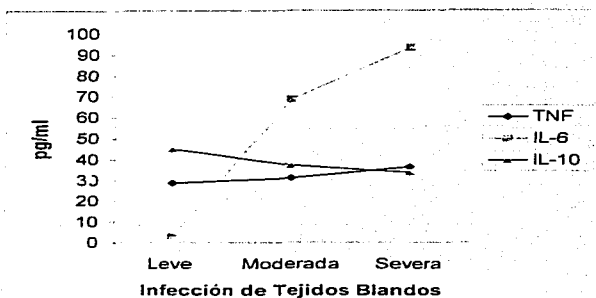
INFECCION DE TEJIDOS BLANDOS			
	Leve n= 6	Moderada n= 9	Severa n= 24
Citoquinas	Promedio \pm DE		
TNF α	28.8 ± 10.3	31 ± 9.4	36.5 ± 9
IL-6	3.1 ± 1.3	68.7 ± 80.1	93.3 $\pm 91^{**}$
IL-10	41.3 ± 45.1	37.3 ± 21.6	33.7 ± 30.1

* DE. Desviación estándar

** P= .02

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Valor promedio de citocinas en relación con severidad de la infección de pacientes con diabetes mellitus tipo 2.



Comportamiento de citocinas en relación a los grados de severidad de la infección de tejidos blandos. La curva de TNF α presenta un leve incremento conforme la infección es de grado severo, en cambio la curva de IL-6 tiene una pronunciada elevación cuando la infección es moderada y severa $p=0.02$; no así con la curva de IL-10, que disminuye discretamente cuando la infección es de tipo moderada a severa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3

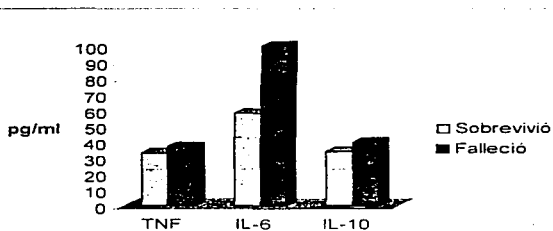
Relación de la mortalidad con los niveles promedio de citocinas			
CITOQUINAS	MORTALIDAD		OR
	Sobrevivió n= 24	Falleció n=15	
	Valor promedio		IC 95%
	DE*		
TNF α			
Total 34	32.7	37.1**	2.5
\pm 9.6	\pm 9.7	\pm 9	(.60- 10.5)
IL-6			
Total 73.7	57.6	99.6	3.2
\pm 86	\pm 80.5	\pm 90.9	(.80- 13)
IL-10			
Total 35.7	33.5	39.3	.97
\pm 30.4	\pm 27.9	\pm 34.7	(.2 - 4)

* DE desviación estándar.

** p= .05

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 2. Nivel de citocinas en relación con la mortalidad de los pacientes con infección de tejidos blandos y diabetes mellitus tipo 2.



Se observa el promedio de citocinas en relación a la mortalidad, apreciándose mayor nivel de citocinas en pacientes que fallecieron en comparación con los que no fallecieron.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4. Relación de variables secundarias con severidad de la infección de tejidos blandos

Variables	Infección de Tejidos Blandos		
	Leve n= 6	Moderada n= 9	Severa n= 24
	P r o m e d i o ± D E*		
Edad	45.5 ± 10.1	48.8 ± 8.7	53.1 ± 8.3
Años de DM	9.2 ± 7.5	3.3 ± 5	9.8 ** ± 9.2
Días de evolución de la infección	8.8 ± 4.6	7.3 ± 4.1	21.5 ± 24.6
Nivel de leucocitos	12.050 ± 3.700	12.300 ± 4.470	15.612 ± 6.212
Nivel de glucosa	228.3 ± 134.8	222 ± 92	255.2 ± 149.3
IMC	25 ± 2.7	28.7 ± 3.7	28.7 ± 7.2

* Desviación estándar

** p= .047

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Relación de variables secundarias con la mortalidad.

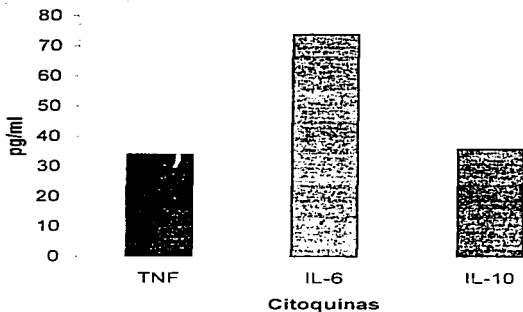
Variables	Mortalidad		OR (IC 95%)
	Sobrevivieron	Fallecieron	
	P r o m e d i o ± D E*		
Edad	49.8 ± 9.6	52.8 ± 7.7	.96 (.3- 3.5)
Años de DM **	5.7 ± 6.3	12.1 ± 10.1	1.4 (.4 - 5)
Días de evolución de la infección	13 ± 17.9	21.4 ± 23.7	2.5 (.5- 13)
Nivel de leucocitos **	12.270 ± 3.847	17.546 ± 6.698	4.5 (1.2 - 18)
Nivel de glucosa **	297.5 ± 113.6	300.8 ± 147.1	3.4 (.9 - 13)
IMC	28.4 ± 6.3	27.7 ± 6	.9 (.2 - 3.7)

* (DE) desviación estándar

** p< .05

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 3. Promedio de citocinas en pacientes con DM tipo 2 e Infección de Tejidos Blandos



Se demuestra el nivel promedio general de las citocinas, observándose elevación significativa de IL-6 en comparación con TNF α e IL-10.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

Se ha estimado que aproximadamente el 7% de la población adulta en los Estados Unidos, o bien 8 millones de personas padecen de diabetes mellitus (3); evidentemente esta enfermedad ha crecido en los últimos años y se ha convertido en un insospechable problema de salud pública, ya que las complicaciones secundarias que trae consigo son la causa más frecuente de morbi-mortalidad; dentro de estas complicaciones podemos mencionar en primer lugar a los padecimientos infecciosos y dentro de éstos la infección de tejidos blandos ocupa uno de los lugares más importantes dentro de las instituciones de salud. Ya se ha demostrado que diversos aspectos de la inmunidad están alterados en pacientes con diabetes mellitus pero poco son los estudios realizados al respecto, sobre todo en nuestro País, ya que la gran mayoría de estudios de la inmunidad están enfocados principalmente a pacientes con sepsis; en este estudio se realizó la determinación de algunas citocinas como TNF α , IL-6 e IL-10, para conocer su comportamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y diferentes grados de infección de tejidos blandos así como la relación de estas citocinas en cuanto a la mortalidad y el grado de severidad de la infección. Debido a que en nuestro país la prevalencia de las complicaciones en pacientes con diabetes mellitus e infección de tejidos blandos es importante, se busca conocer más acerca del comportamiento del sistema inmune ante esta situación, y tal vez en un futuro estas aportaciones sean básicas para apoyo diagnóstico o terapéutico.

En este estudio se identificó que los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos de características moderada y severa presentaban elevación, principalmente de los niveles de TNF α e IL-6, hallando significancia estadística para IL-6 en relación a infecciones severas ($p = .02$); aunque para este mismo tipo de infecciones, relacionándolo con la elevación de los niveles de TNF α , no se halló significancia estadística $p = .07$; aún así consideramos que es un valor muy cercano a la misma, y consideramos que esto se debió al reducido número de muestras obtenidas, y suponemos que teniendo un número mayor de éstas, habría la significancia estadística esperada. Es relevante mencionar que el comportamiento de IL-10 fue inversamente proporcional a las otras dos citocinas, ya que, conforme la infección se tomaba más severa los niveles de IL-10 iban en decremento, lo cual se representó bien en la figura 2. Por otro lado, cuando se realizó el análisis de la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

elevación de los niveles de citocinas con el riesgo de mortalidad en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos. hubo significancia estadística con los niveles elevados de TNF α ($p = .05$); no siendo así con los niveles de IL-6 $p = .11$. Cabe mencionar que la literatura ha relacionado la elevación de los niveles de IL-6 con mayor riesgo de severidad y mortalidad en los pacientes con sepsis (38, 38, 41). En nuestro estudio esto no sucedió, ya que solamente se encontró gran variabilidad en los niveles de IL-6 para los pacientes que sobrevivieron y fallecieron; y en cuanto a los niveles de IL-10 no hubo una relación significativa con el riesgo de mortalidad, contrario a lo reportado por algunos autores (41).

También hubo un análisis de variables secundarias que se correlacionaron con la severidad de la infección así como con el riesgo de mortalidad; dentro de estas variables se encontró que los años de evolución de la diabetes mellitus fueron de gran importancia para la evolución clínica de los pacientes con infección de tejidos blandos, ya que se halló que los pacientes que tenían más años de evolución de la diabetes mellitus cursaban con infecciones más severas y presentaban mayor riesgo de mortalidad. Otras variables estudiadas fueron los niveles de glucosa y el nivel de leucocitos al ingreso de los pacientes al hospital; así como los días de evolución de la infección, la edad, el índice de masa corporal y el género; para lo cual solamente la elevación de los niveles sanguíneos de glucosa así como de los niveles de leucocitos fueron relevantes para el riesgo de mortalidad, y las otras variables no tuvieron mayor intervención en cuanto a la severidad de la infección así como para el riesgo de mortalidad de estos pacientes.

Este estudio nos ha dado una visión del comportamiento de una parte del sistema inmunológico de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 ya que se captó, solo en una fase aguda de la infección, el comportamiento de algunas citocinas; y congruente con otros estudios, nosotros comprobamos una elevación significativa de citocinas pro-inflamatorias como lo son TNF α e IL-6 (11, 12, 13).

Aunque el objetivo de este trabajo fue medir los niveles de citocinas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos de diferentes grados de severidad y observar la diferencia entre ellos, también se pudo contemplar otro tipo de variables clínicas como el tiempo de evolución de la diabetes mellitus y de la infección, el nivel de glucosa sanguínea, el nivel de leucocitos y el IMC: de estos los que arrojaron resultados

significativos estadísticamente para severidad fueron el tiempo de evolución de la diabetes mellitus. Al hacer la correlación con la mortalidad: se encontró que el tiempo de evolución de la DM, el nivel de glucosa y leucocitos sanguíneos fueron los factores estadísticamente significativos.

Dentro de las limitaciones de nuestro trabajo cabe mencionar que la medición de estas citocinas, requiere de técnicas laboriosas muy cuidadosas y costosas haciéndolas poco aplicables en nuestro medio, porque dentro del protocolo de diagnóstico del paciente se requieren de métodos diagnósticos más factibles y rápidos que a su vez nos puedan dar un pronóstico del paciente más tempranamente.

También es de mencionarse que la escala que se tomó para medir la severidad de la infección de tejidos blandos fue adaptada en base a una escala ya existente de Pie diabético (44,48): ya que en la actualidad no existe una escala con validez internacional que haga una clasificación objetiva y completa y que valore todos los aspectos de una herida infectada de tejidos blandos; por lo que consideramos que esto pudiera ser un sesgo en este estudio.

Para concluir, este estudio puede servir como pauta para investigaciones futuras en los que se quiera conocer factores inmunológicos y clínicos de riesgo para severidad y mortalidad de pacientes con DM e infección de tejidos para que así pueda servir de apoyo al clínico para un mejor abordaje diagnóstico terapéutico y pronóstico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES.

- Se observó que los niveles elevados de IL-6 se correlacionaron significativamente con mayor severidad en la infección de tejidos blandos de pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
- También se observó que la elevación de TNF α estuvo muy cercana a la significancia estadística cuando se correlacionó con infecciones severas.
- Los niveles de IL-10 fueron decreciendo en forma discreta conforme la infección de tejidos blandos de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se hacía más severa, y no tuvo significancia estadística para este tipo de infecciones.
- Se presentó mayor riesgo de mortalidad en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos cuando se hallaron niveles elevados de TNF α , congruente con un nivel estadísticamente significativo.
- Las Interleucinas 6 y 10 no guardaron relación alguna con la mortalidad de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e infección de tejidos blandos.
- Dentro de los factores secundarios estudiados como: años de evolución de la diabetes mellitus, días de evolución de la infección de tejidos blandos, nivel de glucosa, nivel de leucocitos e IMC se encontró significancia estadística en la relación de los años de la diabetes mellitus con mayor severidad de la infección.
- Se presentó mayor mortalidad en los pacientes con más años de evolución de la diabetes mellitus y con niveles de leucocitos y glucosa elevados, teniendo significancia estadística.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

1. - Palumbo PJ, MD. Glycemic control, mealtime glucose excursions, and diabetic complications in type 2 diabetes mellitus. Mayo Clinic proceedings. 2001;76 (6): 609-18.
2. - Zimmet, P. Alberti KG. Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature. 2001; 414 (6865): 782-7
3. - Moellerring R. C. Infections in the Compromised Host. Inf. Dis Clin Nort Am. 2001; 15 (2): 407-21
4. - American Diabetes Association: clinical practice recommendations 1998. Foot care patients with diabetes mellitus. Diabetes Care. 1998; 21 (sup 1) 54S-5S.
5. - Stewart SM . Immunology Immunopathology, and immunity. Sixth edition. Washington, American Society for microbiology. 2001; 556-86
6. - Nirmal J. MD, Gregory M. Caputo. MD: Infections in patients with Diabetes mellitus. NEJM. 1999; 341 (25): 1906-1911.
7. - Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular. Segunda edición Interamericana Mc Graw-Hill. 1995.
8. - Aikawa N., Fujishima S, et.al. Cytokine-mediate biological response a severe infections in surgical patients. NGGZ. 1996; 97 (12): 1054-9.
9. - Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature. 2001; 414: 813-20.
10. - Heinzelmann, Michael MD., Scott P.D, Lam T. MD. Bacterial onfections in patients surgical. The Am. J. Surg. 2002; 183 (2): 179-90.
11. - Mandrup-Poulsen T. Recent advances : Diabetes. BMJ. 1998; 316 (7139): 1221-5.
12. - Benjalfield A., Glenn CHL, Wang X, et.al. TNF RSF1 B in genetic predisposition to clinical neuropathy and effect on HDL cholesterol and glycosylated hemoglobin in tipe 2 diabetes. Diabetes Car. 2001; 24 (4) 753-7.
13. - Hancu N, Netea MG, Bauciu I. Hig glucose concentrations increase the tumor necrosis factor-alpha production capacity by human peripheral blood mononuclear cells. Rom J. Physiol. 1998; 35 (3-4): 325-30.
14. - Bonora E, Kiechl S; Oberhollenzer F, et.al. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders. Diabetes. 1998; 47 : 1643-9.
15. - Lillioja S, Mott DM, Howard BV, Bennett PH, Yki-Järvinen H. Impared glucose tolerance as a disorder of insulin actino; longituinal and cross-sectional studies in Pima Indians. N. Engl J.Med. 1998; 318: 1217-25.
16. - Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, graziadei L. Insulin resistance in essential hipertension. N Engl J Med. 1987; 317: 350-57
17. - Mckane WR, Stevens AB, Woods R, Andrews WJ, Henry RW, Bell PM. The assessment of hepatic and peripheral insulin sensitivity in hypertriglyceridemia. Metabolism. 1990; 43: 1240-5.
18. - Karhapaa P, Malkki M, Laakso M. Isolated low HDL Colesterol: an insulin resistance state. Diabetes. 1994; 43: 411-7.
19. - Fernández JM, Vendrell J, Ricart W, Broch M, Gutierrez C, Casamitjana R. Polymorphism of the Tumor Necrosis Factor- alfa Receptor 2 gene is associated with obesity, leptin levels, and insulin resistance in young subjects and diet-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2000; 23: 831-7.

20. - Reza H, Pearson L, McCormack J, Yeaman S, Taylor R. Effects of tumor necrosis factor alpha on insulin Actino in Cultured human muscle Cells. *Diabetes*. 2001; 50: 1102-9.
21. - Hotamisligil G, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, Morris F, IRS-1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity-induced insulin resistance. *Science*. 1996; 271: 665-8
22. - Blüher M, MD; Kratzsch J, Paschke R, MD. Plasma levels of tumor necrosis factor alpha, Angiotensina II, Growth Hormone, and IGF-1 are not elevated in insulin-resistant obese individuals with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2001; 24 (2): 328-34.
- 23.-Davison M, MD. Clinical implications of insulin resistance syndromes. *The Am J.Med.* 1995; 99: 420-6.
24. - Arias A, Giles B, Elermann TH, Sterry W, Pandey JP. Tumor necrosis factor -alpha gene polymorphism in psoriasis. *Exp Clin Immunogenet.* 1997; 14 (2): 118-22.
- 25.- D' Auria L, Bonifati C, Mussi A, D' Agosto, De Simone C, Giacalone B et.al. Cytokines in the sera of patients with pemphigus vulgaris: interleukin-6 and tumor necrosis factor- alpha levels are significantly increased as compared to healthy subjects and correlate with disease activity. *Eur Citokine Newt.* 1997; 8 (4): 383-7.
26. - Csaszar A, Abel T. Receptor polymorphisms and disease. *Eur J. Pharm.* 2001; 414 (1): 9-22.
27. - Makhatadze N.J. Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. *Hum Immun.* 1998; 59 (9): 571-9.
28. - Moller D. Potential role of TNF alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends End met.*2000; 11 (6): 212-7.
- 29.-Ferrannini E. Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: Problems and prospects. *Endoc.Rew.* 1998; 19(4): 477-90.
30. - Nuntayanuwat S, Dharakul T, Chaowagul W, Songsivilai S. Poymorphism in the promoter region of tumor necrosis factor-alpha gene is associated with severe melioidosis. *Hum immunol.* 1999; 60 (10): 979-83.
31. - Schade FU, Stuber F, Borgermann J, Majestschak M. Relation of the biallelic fragment length polymorphism within the tumor necrosis factor B gene to the development of mediastinitis. *Eur J. Sur Suppl.* 1999; 55 (548): 73-8.
- 32.- Stuber F, Peterson M, Bokelman F, Schade U. A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med.* 1996; 24 (3): 381-4.
33. - Debes Jm, Kampneijer R, Vander Linder Mp, Buurman WA. Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med.* 1998; 17 (6): 489-94.
- 34.- Carlstadt F, Lind L, Lindahl B. Proinflammatory cytokines, measured in a mixed population on arrival in the emergency department, are related to mortality and severity of disease. *J Inter Med.* 1997; 242(5): 361-5.
35. - Hammond JM, Potiger PD: The influence of surgery on cytokines in patients with intra-abdominal sepsis. *An Int care.* 1996; 24 (4):430-4.
36. - Malangoni MA, Livingston DJ, Sonnenfeld G, Polk HC. Interferon Gamma and Tumor necrosis factor alpha. Use in gram-negative infection after shock. *Arch Surg.* 1990; 125 (4): 444-6.
37. - Reinhart K, Bayer O, Brunskhorst. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med.* 2002; 30 (5) Sup. S302-12.
38. - Pinsky M, Vicent J, Alegre M. Serum cytokine levels in human septic shock.

37. - Reinhart K, Bayer O, Brunschorst. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med*, 2002; 30 (5) Sup. S302-12.
38. - Pinsky M, Vicent J, Alegre M. Serum cytokine levels in human septic shock. *CHEST*, 1993; 103 (2): 565-75.
39. - Hack E, De Groot, Felt-Bersma, Et al. Increased plasma levels of interleukin-6 in spsis *Blood*, 1989; 74 (5): 1794-10.
40. - Hassle C, andreson B, Wold AE. Gram-positive bacteria are potent inducer of monocytic interleukin-12 (IL-12) while gram-negative baegerial preferentially stimulate IL-10 oriduction. *Infect Immun*, 2000; 68(6): 3581-6.
41. - Charalambos A, Drosou E, Bassaris H. Pro- versus Anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis. *J Infect Dis*, 2000; 181: 176-80.
42. - Taniguchi T, Kojido Y, Aiboshi J. Change e in the ratio of interleukin -6 a interleukin -10 predicts a poor out come in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*, 1999; 27: 1262-4.
- 43.- Holscher C, Mohrs M, Dai WJ, Kohler G, Ryffel B, Schaub GA, Mossmann H. Tumor necrosis factor alpha-mediated toxic shock in trypanosoma cruzi-infected interleukin -10, deficient mice. *Infee Immun*, 2000; 68 (7) 4075-83.
44. - Gibbons GW, MD, Habershaw M, DPM. Diabetic Foot infections. *Anatomy and surgery. Infections in diabetes mellitus*. *Infee. Dis Clin North Am*, 1995; 9 (1): 131-161.
- 45.- Fauci. Braunwald, Isselbacher, et.al. *Harrison Principios de Medicina Interna*, 14a. Edición, Mc Graw Hill, Interamericana, Vol I, 1998; 944-8.
- 46.- Garcia JS. Introducción a la Metodología de Investigación Médica Interdisciplinaria. PUIS, UNAM, 1998.
- 47.- Hernández TJ, Giono S. *Manual de Prácticas de Bacteriología Médica*. IPN, ENCB, 2001; 175-81.
48. - Gibbons, GW, Habershaw, GM. Diabetic Foot Infections. *Infee Dis Clin North Am* 1995; 9:143-161.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nombre del paciente _____
Edad _____ Sexo _____ Filiación _____
Peso _____ Talla _____ IMC _____ TA _____

1.- Tiempo de evolución de la diabetes mellitus _____

2.- Diagnóstico de Ingreso _____

3.- Localización de la infección _____

4.- Extensión de la infección _____

5.- Severidad de la infección:

Leve _____ Moderada _____ severa _____

6.- Tiempo de evolución de su padecimiento actual _____

7.- Tipo de tratamiento utilizado para la DM:

Hipoglucemiantes orales _____ Insulina _____ Mixto _____

Sin tratamiento _____

8.- Presencia de Hipertensión arterial: Sí _____ No _____

Tratamiento _____

9.- Enfermedades crónico degenerativas asociadas

10.- Ingesta de otros medicamentos _____

11.- Resultados de laboratorio del ingreso al hospital

Hb _____, Hto _____, Leucocitos _____, Linfocitos _____,

Neutrófilos _____, Glucosa _____, Creatinina _____,

Resultado de cultivo de herida _____

Tratamientos utilizados (antibióticos) _____

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 2

México D.F. a _____ de _____ de 2002

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA "DR. DANIEL MENDEZ HERNÁNDEZ"
CENTRO MEDICO NACIONAL
"LA RAZA "**

ASUNTO: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PRESENTE:

Por medio de la presente y en pleno uso de mis facultades mentales,
YO _____

Doy mi CONSENTIMIENTO, para participar en el protocolo de investigación, cuyo título es, RESPUESTA INMUNE DE CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS (TNF alfa, IL-6, IL-10), EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 E INFECCIÓN DE TEJIDOS BLANDOS CON DIFERENTES GRADOS DE SEVERIDAD. Que a mi beneficio será confidencial y ordenado, donde se me tomarán muestras de sangre (de 1 a 3 en el transcurso de mi estancia intrahospitalaria) para ser analizadas dentro de este mismo trabajo de investigación, y a la vez se respetará mi decisión de continuar o retirarme del mismo, aún habiendo dado mi consentimiento; y además se me informará de los resultados obtenidos en dicho estudio; sabiendo de antemano que los resultados de este estudio servirán para el avance del conocimiento médico y científico.

ATENTAMENTE

Nombre y Firma del paciente

TESTIGO

TESTIGO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**