



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
SERVICIO DE INMUNOLOGIA CLINICA Y ALERGIA  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES  
DR. BERNARDO SEPÚLVEDA GUTIÉRREZ  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL



**“ASOCIACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE RESISTINA Y CITOCINAS  
PROINFLAMATORIAS EN PACIENTES ASMÁTICOS OBESOS  
Y CONTROLES.”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE SUBESPECIALIDAD EN  
INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA

P R E S E N T A

DR JORGE GABRIEL RODRIGUEZ VELASCO

TUTOR: M. en C RAFAEL MONDRAGÓN GONZÁLEZ

ASESORES: DRA NORA HILDA SEGURA MÉNDEZ  
DR LEONEL DEL RIVERO HERNÁNDEZ

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2006



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.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ”  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI  
SERVICIO DE INMUNOLOGIA CLINICA Y ALERGIA

**“ASOCIACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE RESISTINA Y  
CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN PACIENTES ASMÁTICOS OBESOS  
Y CONTROLES.”**

Autor:

DR JORGE GABRIEL RODRIGUEZ VELASCO <sup>1</sup>

Tutor:

M. en C. RAFAEL MONDRAGÓN GONZÁLEZ <sup>2</sup>

Asesores:

DRA NORA HILDA SEGURA MENDEZ <sup>3</sup>  
DR LEONEL DEL RIVERO HERNANDEZ <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Médico Residente del Servicio de Inmunología Clínica y Alergia

<sup>2</sup> Investigador Asociado “B” UIM en Dermatología y Micología.

<sup>3</sup> Médico de Base del Servicio de Inmunología Clínica y Alergia

<sup>4</sup> Médico de Base del Servicio de Inmunología Clínica y Alergia.

ASOCIACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE RESISTINA Y CITOCINAS  
PROINFLAMATORIAS EN PACIENTES ASMÁTICOS OBESOS  
Y CONTROLES.

R-2006-3601-10

TUTOR DE TESIS

---

**M. en C. RAFAEL MODRAGÓN GONZÁLEZ**

INVESTIGADOR ASOCIADO B

TUTOR DE TESIS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DERMATOLOGIA Y MICOLOGÍA  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ”

ASESORES

---

**DRA NORA HILDA SEGURA MÉNDEZ**

SERVICIO DE INMUNOLOGIA CLINICA Y ALERGIA

---

**DR LEONEL DEL RIVERO HERNÁNDEZ**

SERVICIO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA

---

**DRA LEONOR BARILE FABRIS**

JEFA DE DIVISIÓN EN EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN MÉDICA EN SALUD  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ”  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

---

**DR VICTOR MANUEL ALMEIDA ARVIZU**

JEFE DE SERVICIO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN INMUNOLOGIA  
CLINICA Y ALERGIA  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “ DR. BERNARDO SEPULVEDA  
GUTIERREZ”  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

## **AGREDECIMIENTOS**

A mis asesores por su apoyo e interés

Al Dr. Miguel Cruz López  
Jefe de la UIM en Bioquímica  
Por haber proporcionado parte del material y  
equipo para la elaboración de esta tesis.

A los pacientes por su cooperación y ayuda desinteresada que es  
un compromiso en el servicio hacía ellos.

## **DEDICATORIA**

A mis padres que con sus hechos son un impulso vital en mi vida.

## CONTENIDO

RÚBRICA	3
	4
CONTENIDO	5
ABREVIATURAS	6
INDICE	7
AGRADECIMIENTOS	8
DEDICATORIA	9



## INDICE

I. Antecedentes	
Introducción	10
Asma extrínseca	10
Etiología	10
Genética	11
Mediadores inflamatorios	12
Moléculas de adhesión	13
Cuadro clínico	14
Clasificación	14
Diagnóstico	14
Obesidad	15
Resistina	18
II. Justificación	20
III. Planteamiento del problema	21
IV. Objetivo	22
V. Hipótesis	23
V. Material y métodos	24
- Diseño del estudio	24
- Universo de trabajo	24
- Descripción de variables	24
Selección de la muestra	25
* Criterios de inclusión	26
* Criterios de no inclusión	27
* Criterios de exclusión	27
- Procedimiento	28
Análisis estadístico	32
VI. Consideraciones éticas	33
VII. Resultados	34
VIII. Discusión	35
IX. Conclusiones	38
X. Bibliografía	39
X. Anexos	42

ABREVIATURAS:

**IL** Interleucina

**Ig** Inmunoglobulina

**GINA** Estrategia Global para la Prevención y Manejo del Asma

**GlyCAM-1** Molécula de adhesión celular dependiente de glicosilación-  
1

**MadCAM-1** Molécula de adhesión celular vascular adresina-1

**VCAM-1** Molécula de adhesión celular vascular-1

**ICAM-1** Molécula de adhesión intercelular-1

**VEF1** Volumen espiratorio forzado del primer segundo

**CVF** Capacidad vital forzada

**TNF $\alpha$**  Factor de necrosis tumoral alfa

**ICM** Índice de masa corporal

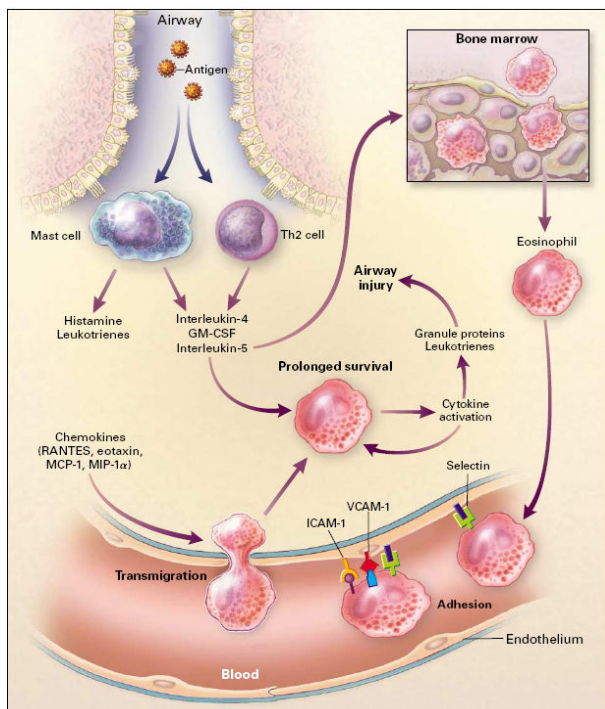
## Introducción:

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta a las vías respiratorias y de éstas en especial a las de pequeño calibre. Clínicamente se acompaña de obstrucción reversible del flujo aéreo y una hiperreactividad bronquial que evoluciona hacia remodelación de las vías respiratorias. Su diagnóstico se realiza de acuerdo al consenso llamado Estrategia Global para la Prevención y Manejo del Asma (GINA)<sup>1</sup>

La inflamación alérgica puede precipitarse por exposición a alérgenos, actividad física, agentes químicos y otros agentes de composición mixta<sup>2,3</sup>

## Etiología

La etiología del asma es compleja y multifactorial e involucra la interacción de factores genéticos y estímulos ambientales. La mayoría de la información con respecto a la patogénesis del asma se concentra en el asma atópica y el desbalance existente entre los fenotipos Th1 y Th2<sup>3</sup> (Figura 1)



**Figura 1: Patogénesis del asma alérgica.** Los antígenos inhalados activan a la célula cebada con síntesis de IL-4, IL-5 que inducen maduración en médula ósea del eosinófilo. Los eosinófilos circulantes comienzan la migración por rodamiento en pulmón con la interacción de moléculas de adhesión. Hay síntesis de diversas ILs  
Fuente: N Engl J Med, Vol 344, No5

Sin embargo, también puede existir un tipo de asma no alérgica caracterizada por pruebas cutáneas a alérgenos negativas y sin historia de enfermedad atópica en la familia. La genética, el medio ambiente uterino, la dieta materno-fetal, infecciones respiratorias y la exposición ambiental y ocupacional contribuyen a este balance. La forma con la cuál estos factores convergen determinará si la reacción del sistema inmune de un individuo particular provocará inflamación de la vía aérea y remodelación.

## **Genética**

En el aspecto de la genética, el asma es un síndrome para el cuál la predisposición genética es fundamental en el cuál hay mucho por comprender. Actualmente no hay duda sobre el papel que juega la herencia en la etiología del asma y de su estrecha interacción con el medio ambiente. Diversos estudios de segregación en cohortes aleatorizadas de familias han demostrado que éstas características son poligénicas y multifactoriales <sup>4,5</sup>. Sin embargo, actualmente no es posible distinguir a un gen principal. La expresión de la enfermedad dependerá de la interacción entre los múltiples genes mayores y menores y en su modulación con factores no genéticos como es el medio ambiente.

El enorme incremento de la prevalencia del asma en los últimos 20 años muestra un importante papel que juega el medio ambiente en el desarrollo y evolución de esta enfermedad.

Dentro de la patogénesis, la inflamación alérgica involucra una compleja interacción entre muchas diferentes células inflamatorias que liberan un amplio espectro de mediadores químicos.

Aunque las manifestaciones clínicas de la respuesta alérgica varían dependiendo del tejido y antígeno involucrado, en la actualidad se sabe que la reacción consiste en: a) Una fase temprana –inmediata- dependiente de la degranulación de las células cebadas donde se libera principalmente histamina y otros mediadores que incluyen citocinas, prostaglandinas, leucotrienos, triptasa, quimasa. Esta fase aparece a los pocos minutos de la exposición del sujeto a un antígeno y usualmente finaliza a las 2 hrs. b) Una fase tardía que se caracteriza por la migración de células inflamatorias desde la circulación. Esta fase inicia a las 3 horas de la exposición al alérgeno aproximadamente y puede persistir desde 24 horas hasta semanas y está asociada a un aumento en la inflamación eosinófila de la vía aérea e hiperactividad.

## **Mediadores inflamatorios**

La fase de sensibilización de la respuesta alérgica comienza cuando las células presentadoras de antígenos exponen fragmentos del alérgeno a los linfocitos T los cuales lo procesan y condicionan síntesis del IL-4 la cuál es una citocina principal en el cambio de switch en el linfocito B. La Ig-E se une a sus receptores en las células cebadas y basófilos circulantes de manera que en una exposición subsecuente con el alérgeno provoca un entrecruzamiento de las moléculas de Ig-E con la activación enzimática de tirosin cinasa, protein cinasa C, fosfolipasa C, fosfolipasa A2 con la consecuente liberación de mediadores químicos preformados como es la histamina y de mediadores con síntesis de novo como son las prostaglandinas y leucotrienos durante la fase temprana.

Actualmente, el proceso de hipersensibilidad es considerado como resultado de una respuesta celular de tipo Th2 a uno o más alérgenos del medio ambiente<sup>6</sup> y representa una forma polarizada de la respuesta inmune mediada por células T

cooperadoras y se va a caracterizar por la síntesis de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13. En la patogénesis del asma, la liberación de IL-4 en la vía aérea promueve la metaplasia de las células Goblet, hipersecreción de moco y reclutamiento de eosinófilos al aumentar la expresión de moléculas de adhesión celular vascular (VCAM-1) en las células endoteliales pulmonares.

## **Moléculas de adhesión**

En el del proceso inflamatorio pulmonar, las moléculas de adhesión realizan una función primordial, así por ejemplo; tenemos que para el rodamiento, las selectinas tienen un papel esencial en la activación leucocitaria y pueden ser de tres tipos: L-selectina, E-selectina y P-selectina. La P-selectina se encuentra en gránulos secretorios en las plaquetas y se expresa en la superficie celular tras la activación. Se expresa además constitutivamente en el endotelio del pulmón y de forma inducida en la mayoría de las células endoteliales durante procesos inflamatorios <sup>7</sup>. La E-selectina se expresa en las células endoteliales de la mayoría de los órganos durante las fases de inflamación aguda y en los microvasos de la piel no inflamada <sup>8</sup>. La L-selectina se expresa sobre la superficie de los leucocitos. Sus ligandos glucosilados son GlyCAM-1, MadCAM-1, CD34 y PND. Otras moléculas de adhesión son las integrinas que tienen la función de frenar el rodamiento por el endotelio y la selección de la célula que va a extravasarse. Las integrinas más abundantes en los leucocitos son LFA-1, una integrina  $\beta 2$ , (VLA-4), ( $\alpha 4\beta 1$ ), VLA-5 ( $\alpha 5\beta 1$ ), VLA-6 ( $\alpha 6\beta 1$ ). Sus ligandos son VCAM-1 e ICAM-1 los más importantes en la extravasación leucocitaria<sup>9</sup>. Se ha encontrado niveles aumentados de E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 en el endotelio de tejido pulmonar de pacientes asmáticos después del reto con el alérgeno<sup>10</sup>

## **Cuadro clínico**

Dentro del cuadro clínico, los síntomas reportados por los pacientes incluyen: sensación de falta de aire de forma episódica, sibilancias, opresión torácica y tos los cuales se pueden agravar por la noche y en las primeras horas de la mañana. Un marcador clínico útil del asma es el alivio de los síntomas después del uso de broncodilatadores.

## **Diagnóstico**

Para su diagnóstico se debe incluir una espirometría donde se mida el Volumen Espiratorio del primer segundo (VEF1), su relación con la capacidad vital forzada (CVF) antes y después de la administración de un broncodilatador de acción corta. La obstrucción se puede observar con la disminución de la tasa  $VEF1/CVF < 75 \%$ . La reversibilidad de la obstrucción de la vía aérea se considera de significancia cuando es  $> 12 \%$  ó de 200 ml. de VEF1 o  $> 15 \%$  ó 200 ml de CVF después de inhalar el broncodilatador.

## **Clasificación**

Las guías GINA<sup>1</sup> fueron diseñadas de una forma escalonada para el manejo a largo plazo del asma y clasifican al asma en cuatro diferentes grados de severidad (cuadro 1):

- Leve intermitente
- Leve persistente
- Moderada persistente
- Severa persistente

<b>STEP 1: Intermittent</b>
Symptoms less than once a week Brief exacerbations Nocturnal symptoms not more than twice a month • FEV <sub>1</sub> or PEF ≥ 80% predicted • PEF or FEV <sub>1</sub> variability < 20%
<b>STEP 2: Mild Persistent</b>
Symptoms more than once a week but less than once a day Exacerbations may affect activity and sleep Nocturnal symptoms more than twice a month • FEV <sub>1</sub> or PEF ≥ 80% predicted • PEF or FEV <sub>1</sub> variability 20-30%
<b>STEP 3: Moderate Persistent</b>
Symptoms daily Exacerbations may affect activity and sleep Nocturnal symptoms more than once a week Daily use of inhaled short-acting β <sub>2</sub> -agonist • FEV <sub>1</sub> or PEF 60-80% predicted • PEF or FEV <sub>1</sub> variability > 30%
<b>STEP 4: Severe Persistent</b>
Symptoms daily Frequent exacerbations Frequent nocturnal asthma symptoms Limitation of physical activities • FEV <sub>1</sub> or PEF ≤ 60% predicted • PEF or FEV <sub>1</sub> variability > 30%

**Cuadro 2** Estadios en base a sintomatología clínica y espirométrica para clasificar el asma

Fuente: Global Strategy for Asthma Management and Prevention NIH Publication No 02-3659 Issued January, 1995 (updated 2002)

## Obesidad

En nuestro país, por otro lado, la Encuesta Nacional de Nutrición (ENSA) del 2000 reporta una prevalencia de obesidad del 26.1 %, mientras que en el sexo femenino se presenta la mayor frecuencia de 30.9% en relación con la registrada en los hombres (21.2%)<sup>11</sup>

A partir de 1998 se han publicado estudios epidemiológicos que destacan una posible asociación entre obesidad y asma, la mayor parte de estos estudios fueron realizados en niños y los resultados indican que la obesidad favorece un riesgo mayor de



asma, mientras que otros autores muestran que los niños asmáticos obesos presentan una mayor frecuencia de síntomas, exacerbaciones o más requerimientos de medicación contra la misma patología <sup>12</sup>. (Cuadro 3)

**Cuadro 3: Estudios de asociación entre obesidad y asma en adultos.**

Referencia (año)	N	Edad (años)	Población	Tipo de estudio	Conclusiones del estudio
31 (2001)	2,788 asmáticos 39,637 controles	17-96	Población general con asistencia médico-militar, tres ciudades de EUA	Casos y controles	Riesgo mayor de asma de 20 a 150% más con IMC de 30 a 40 kg/m <sup>2</sup>
32 (2000)	1,971 adultos	17-73	Adultos blancos de zona rural en Australia	Transversal	IMC > 35 fue asociado a 104% más riesgo de asma, pero no mayor hiperreactividad bronquial evaluada por reto con metacolina
33 (1999)	8,960 sujetos	26	Cohorte de 1,970 en Gran Bretaña	Transversal	51% más riesgo de asma en mujeres con IMC de 26 a 29 kg/m <sup>2</sup> y 84 más riesgo en mujeres con IMC ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>
34 (1999)	17,605 sujetos 9,557 mujeres	> 12	Muestra nacional representativa de Canadá	Transversal	86% más riesgo de asma con mujeres con IMC ≥ 28 kg/m <sup>2</sup>
35 (2001)	7,109 sujetos	≥ 18	Adultos de ocho poblaciones de Anhui, China	Transversal	Las mujeres no fumadoras con IMC ≥ 30 tuvieron 170% más riesgo de tener asma
36 (1999)	85,911 mujeres	26-46	Registro nacional de enfermeras de EUA	Longitudinal	Mujeres con IMC ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> tuvieron 170% más riesgo de desarrollar asma
37 (2001)	4,547 sujetos	18-30	Adultos jóvenes reclutados de cuatro ciudades en EUA	Longitudinal 10 años	Mayor incidencia de asma en 20% de mujeres con mayor IMC. Menos actividad física no se asoció a aumento peso y asma
38 (2002)	9,149 sujetos	20-64	Encuesta nacional de salud, Canadá 1994-95 y 1996-97	Longitudinal 2 años	La incidencia de asma fue 1.6% en hombres y 2.9% en mujeres. Las mujeres con IMC ≥ 30 tuvieron 90% más riesgo de desarrollar asma

Fuente: Obesidad y asma. Rev. Invest. Clin. 2002;54: 453-461

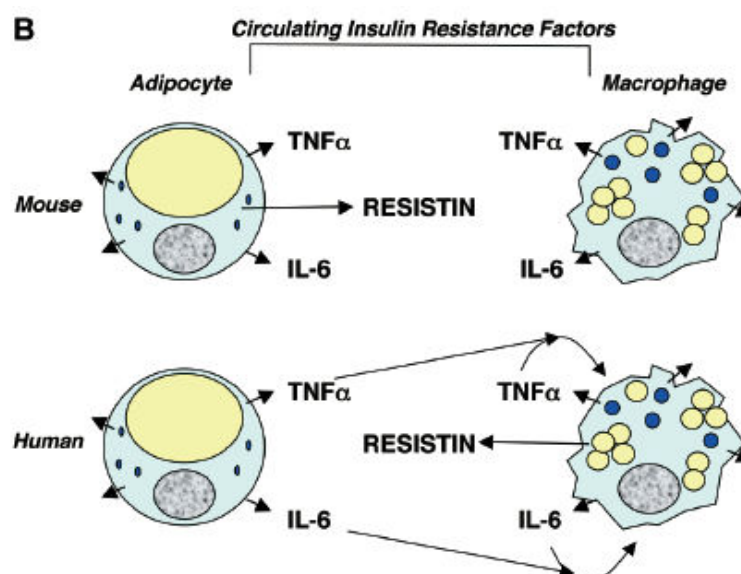
Estudios realizados principalmente en mujeres, han encontrado una relación directa entre asma y el incremento en masa corporal y estos resultados indican que existe un riesgo entre 84 al 170 % de padecer alguna sintomatología de asma <sup>13</sup>

Se tiene bien documentado que en la obesidad se presenta un estado inflamatorio crónico<sup>14</sup> y se ha descrito que las citocinas secretadas por el adipocito juegan un papel en daño causado por la activación del sistema inmune innato y en el incremento de la secreción de proteínas bioactivas relacionada con los procesos inflamatorios. Se ha encontrado que hay una correlación entre el aumento de las concentraciones séricas de IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), resistina, leptina y de proteína C reactiva con respecto al daño microvascular endotelial presente en individuos obesos y en pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2<sup>15</sup> (Figura 2).

## Resistina

Recientemente diversos autores describen a la resistina y la leptina como moduladores de la síntesis de IL-6 y de proteína C reactiva además de otras proteína involucradas en la fase aguda que contribuyen al incremento significativo del deterioro del estado físico de individuos con obesidad con o sin antecedentes de resistencia a la insulina<sup>16</sup>

Además diversos estudios revelan que la resistina induce en macrófago la liberación del IL-6 y TNF $\alpha$  elevadas tanto en obesidad como en asma<sup>21</sup> (Figura 2).



**Figura 2 Interacción macrófago adipocito.** Fuente: Plos Medicine 2004;1;40-46

Estudios han demostrado que la administración de resistina en ratones deteriora la homeostasis de la glucosa favoreciendo la resistencia a la glucosa<sup>16,17</sup>

La aplicación de anticuerpos monoclonales anti-resistina disminuye los niveles de glucosa y estimulan la secreción de insulina<sup>18</sup>

Actualmente se conoce que hay una asociación entre la obesidad y el asma en un proceso inflamatorio crónico, sin embargo aún no se conoce el papel que juegan las adipocinas en la patogenia de estas entidades. Se ha documentado correlación entre los niveles de resistina y el receptor soluble de TNF $\alpha$  en individuos obesos<sup>19,20</sup>.

Esto confirma que la resistina no solo está involucrada en la resistencia a la insulina y en los procesos pro inflamatorios presentes en la obesidad y la diabetes, sino que al ser una potente adipocina con propiedades proinflamatorias e inducir una elevada concentración de citocinas proinflamatorias, lo que la convierte en un factor importante para la susceptibilidad al desarrollo del asma a hacia diversos antígenos presentes en el medio ambiente.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Existe diferencia entre las concentraciones séricas de resistina, IL-6, TNF $\alpha$ , VCAM-1, E-selectina entre pacientes asmáticos obesos, asmáticos no obesos e individuos sanos?

## **OBJETIVOS**

- 1.- Detectar y cuantificar las concentraciones séricas de Resistina, IL-6, TNF- $\alpha$ , E-selectina, VCAM-1 en pacientes asmáticos obesos y controles.
- 2.- Determinar la posible asociación entre los niveles séricos de Resistina, IL-6, TNF- $\alpha$ , E-selectina, VCAM-1 y el asma.

## **HIPOTESIS**

1.- Existe una asociación entre el incremento en la síntesis resistina y el aumento de citocinas proinflamatorias, tales como IL-6, TNF $\alpha$ , VCAM-1 y E-selectina en pacientes con asma y obesos, tal como se ha documentado para la diabetes tipo 2.

2.- Es posible que el incremento de resistina y citocinas proinflamatorias desempeñen un rol importante en el asma

## JUSTIFICACION

Se conoce que existe una asociación entre obesidad y asma principalmente en adultos, también se sabe que convergen en la presencia de un grado de inflamación crónica, sin embargo se desconoce la participación de adipocinas de tipo proinflamatorio, tales como la resistina que al incrementar su concentración, se pueda asociar con la fisiopatología de asma. Tampoco se han realizado estudios que asocien el aumento de la síntesis de resistina en pacientes asmáticos obesos no diabéticos con la presencia de citocinas proinflamatorias tales como, IL-6, TNF $\alpha$ , así como moléculas de adhesión como: E-selectina, VCAM-1, involucradas en diversos procesos inflamatorios presentes en pacientes asmáticos e individuos con síndrome metabólico y diabetes tipo 2.

En base a lo anterior se justifica el realizar un estudio que determine el efecto de los niveles séricos de éstas citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión en pacientes asmáticos obesos y no obesos con especial énfasis en la resistina que es una adipocina poco estudiada en éste tipo de pacientes y su repercusión en la severidad del asma

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Diseño del estudio:**

Transversal, analítico, comparativo

### **Universo de trabajo:**

Pacientes derechohabientes del IMSS que corresponden a la Delegación 3 y 4 pertenecientes al servicio de Alergia e Inmunología Clínica del UMAE Siglo XXI.

Los controles sanos se reclutaron de forma voluntaria ente los médicos residentes, donadores sanos del Banco de Sangre Central del CMN Siglo XXI

### **Descripción de las variables:**

Variable independiente:

a) Asma alérgica:

- Definición conceptual: Proceso inflamatorio crónico de las vías respiratorias bajas mediado por IgE secundario a aeroalergenos que cursa con broncostricción reversible.
- Definición operacional: De acuerdo a las Guías Internacionales para Diagnóstico y Tratamiento del Asma (GINA)<sup>1</sup>
- Variable nominal:



b) Obesidad:

- Definición conceptual: Es la presencia de peso igual o mayor al 27 % del peso según el valor estándar de peso/talla<sup>2</sup> <sup>22,23</sup>
- Definición operacional: De acuerdo a la determinación de índice de masa corporal (peso/talla<sup>2</sup>). Se tomara como obeso cuando sea mayor o igual a 30 %<sup>22,23</sup>
- Variable nominal

Variable dependiente:

- Concentraciones séricas de Resistina, IL-6, TNF $\alpha$ , VCAM-1 y E-selectina
- Definición operacional: En la patogenia inflamatoria como asma y obesidad hay síntesis de citocinas tales como IL-6, TNF $\alpha$ , VCAM-1 y E-selectina
- Serán determinadas por medio de Inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA)

## **SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

- a) Tamaño de la muestra: Dado que hay escasa información sobre la concentración sérica de resistina en pacientes asmáticos obesos se realizará un estudio inicial piloto con 15 pacientes de cada grupo pariado con 15 pacientes de grupo control sanos. Los grupos se obtendrán de la Consulta Externa del servicio de alergia e inmunología clínica de acuerdo a los criterios de inclusión. Se tomará como

paciente sano aquel que tenga un VEF1 igual o mayor al 80 % del valor predicho de acuerdo a GINA<sup>1</sup>

b) Criterios de selección:

- Criterios de inclusión Grupo 1 ( Asmáticos y obesos)
  - Pacientes con asma alérgica<sup>1</sup>
  - Edad mayor a 18 años y menor de 60 años
  - Pacientes con obesidad<sup>22,23</sup>
  - De uno u otro sexo
  - Consentimiento informado firmado
  
- Criterios de inclusión Grupo 2 (Asmáticos no obesos)
  - Pacientes con asma alérgica<sup>1</sup>
  - Edad mayor a 18 años y menor de 60 años
  - Pacientes sin obesidad<sup>22,23</sup>
  - De uno u otro sexo
  - Consentimiento informado firmado
  
- Criterios de inclusión Grupo 3 ( Individuos sanos no obesos)
  - Sujetos sin asma<sup>1</sup>
  - Edad mayor a 18 años y menor de 60 años
  - Pacientes sin obesidad<sup>22,23</sup>
  - De uno u otro sexo
  - Consentimiento informado firmado

- Criterios de no inclusión:
  - Diabéticos
  - Hipertensos
  - Tratamiento con  $\beta$ -bloqueadores, incluso cuando se administran de forma tópica
  - Con tratamiento médico o que estén con inmunoterapia.
  - Mujeres embarazadas
  - Enfermedades autoinmunes y neoplásicas conocidas
  - Asma severa no controlada mediante farmacoterapia y/o pacientes con obstrucción no reversible de las vías aéreas (FEV1 por debajo del 70% del valor esperado después del tratamiento farmacológico adecuado).
  - Procesos infecciosos agudos al momento de la toma de muestra.
  
- Criterios de exclusión:
  - Muestra deficiente o mal tomada.
  - Mal procesamiento de la muestra
  - Muestras hemolizadas o quilosas

## **PROCEDIMIENTO**

1.- En el estudio participaran pacientes que acuden al servicio de consulta externa del servicio de Alergia e Inmunología clínica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI formando tres grupos:

- 1.- Uno de asmáticos obesos
- 2.- Uno de asmáticos no obesos
- 3.- Un o de grupo control

Lo anterior en estricto apego a los criterios de inclusión y con previa firma del consentimiento informado.

2.- El personal médico se encargará de invitar verbalmente a los pacientes durante su consulta en el servicio de Alergia e Inmunología clínica a formar parte del estudio a realizar. Se obtendrá consentimiento informado firmado

3.- Se asignará un día específico de la consulta médica para la atención de los pacientes

4.- Se realizará PC mediante prick test para los aeroalergenos más frecuentes en el Valle de México Los alérgenos son del laboratorio International Pharmaceutical Immunology SA<sup>®</sup> (IPI ASAC)

5.- Se considerará positiva la prueba cutánea cuando se presente una lesión igual o mayor a 5 mm o bien con eritema o pseudópodos<sup>24</sup>

6.- Se realizará una espirometría con espirómetro Marca Puritan Bennett Renaissance II© con la realización de una lectura preadministración de broncodilatador y otra espirometría posterior a administración de broncodilatador. El criterio de asma es en base a GINA<sup>1</sup>

5.- El broncodilatador será salbutamol en spray presente en cuadro básico de medicamentos del IMSS. La dosis será de 200 µg

6.- Se tomará una muestra sanguínea de 5 ml con vacutainer® con heparina.

7.-Se asignará un número progresivo a partir de uno

### **Cuantificación de citocinas proinflamatorias**

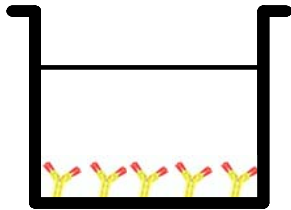
La determinación de la concentración de Resistina, IL-6, TNF- $\alpha$ , E-selectina y VCAM-1 se realizará mediante kits comerciales de ELISA tipo sándwich (R&D® y Peptotech®), a partir de muestras de suero o plasma de pacientes y controles y almacenarán a -70° hasta su uso. La técnica se puede esquematizar en la figura 3 y se desarrollará de la siguiente forma:

### **Determinación de resistina y citocinas proinflamatorias en suero o plasma.**

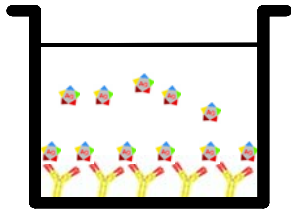
1. Agregar 100  $\mu$ l/pozo del anticuerpo de captura para la adipocina en cuestión diluida en buffer de carbonatos e incubar a 4°C toda la noche.
2. Aspirar los pozos y lavar 3 veces con PBS-Tween 20 al 0.05%
3. Bloquear la placa con 300 $\mu$ l/pozo con PBS adicionado con suero fetal bovino al 10% e incubar a temperatura ambiente durante una hora.
4. Aspirar y lavar como en el paso 2.
5. Adicionar 100 $\mu$ l/pozo del estándar, controles y plasmas problema e incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
6. Aspirar y lavar como en el paso 2.
7. Adicionar 100 $\mu$ l/pozo de anticuerpo de detección adicionado con el reactivo de avidina-peroxidasa. Sellar la placa e incubar a temperatura ambiente 1 hora.
8. Aspirar y lavar 5 veces con PBS-T.
9. Adicionar 100 $\mu$ l/pozo de TMB e incubar a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos.

10. Adicionar 25 $\mu$ l/pozo de ácido sulfúrico 2N y leer a 450 nm.
11. Calcular mediante regresión lineal la concentración en pg/mL para cada caso.

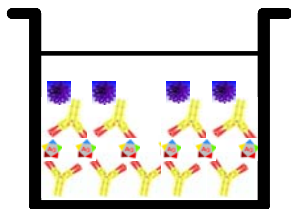
Figura 3. ELISA tipo sándwich para la detección de citocinas



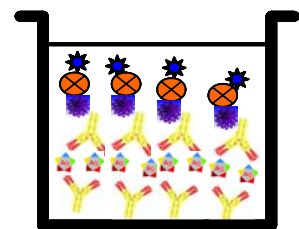
Pegado de anticuerpo monoclonal murino anti-interleucina en incubado 4°C toda la noche.



Decantar y lavar, para añadir de estándares y sueros problema e incubado 2 horas 20-25°C.

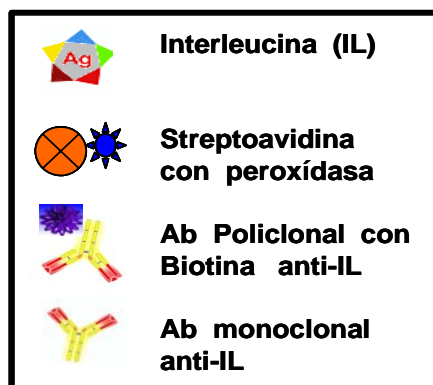


Decantar, lavar y adicionar anticuerpo policlonal de conejo biotinilado e incubar 60 min. 20-25°C.



Decantar, lavar y agregar estreptoavidina-peroxidasa. Incubar 30 min. Decantar y lavar.

Adicionar el revelador TMB y leer a una longitud de onda de 450 nm



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico se realizará con el programa SPSS® Versión 12. Se tomará como significativo cualquier valor de  $p < 0.05$ . La parte estadística se empleó una prueba de libre distribución (U de Mann-Whitney) para muestras independientes.



## Resultados

Se incluyeron en el estudio un total de 30 pacientes divididos en dos grupos, 15 pacientes con asma no obesos (grupo 1) y 15 pacientes con asma y obesidad ( grupo 2) así como un tercer grupo de 15 individuos sanos como grupo control (Grupo 3).

El promedio de edad y la relación de género de los tres grupos se encuentra en la Cuadro 4

Se compararon las determinaciones de resistina, IL-6, VCAM-1, E-selectina y TNF $\alpha$  entre el grupo 1 y el grupo 2 encontrándose una diferencia significativa entre ambos grupos para la resistina y la IL-6 con una  $p < 0.0001$ , así como en la concentración de TNF $\alpha$  detectada al compara cada grupo ( $p = 0.026$ ) (Cuadro 5)

Al hacer la comparación del grupo 2 con el grupo control se encontraron diferencias significativas, no sólo para IL-6 y resistina sin no también para TNF $\alpha$  y la variable de IMC (Cuadro 6)

Al realizar la comparación del grupo 1 con el grupo control se encontraron las mismas deferencias significativas entre resistina, IL-6, TNF $\alpha$  y la variable de IMC (Cuadro 7)

## Discusión

Diversos autores han descrito una relación directa entre la severidad del asma y un índice de masa corporal mayor de 30 que incrementa entre 84-170% el riesgo de padecer asma<sup>13</sup>

Esta asociación entre asma y obesidad es hasta de un 70% más frecuente en mujeres mayores de 18 años de acuerdo a los datos proporcionados por la Asociación Americana de Neumología<sup>25</sup>. Nuestro estudio mostró mayor frecuencia de asma moderado-severo en mujeres que en varones, con una relación 3:1 con IMC > 30 y una edad promedio de 33±4 años, lo que concuerda con lo referido por la literatura<sup>25</sup>

En nuestro grupo de estudio encontramos que los pacientes asmáticos obesos con un IMC promedio de 36 presentan con mayor frecuencia asma severo que los pacientes asmáticos no obesos con un promedio de IMC de 24 con un valor de p estadísticamente significativa y acorde con los reportes de la literatura<sup>12</sup>

Ambas patologías son consideradas procesos inflamatorios crónicos, el tejido adiposo blanco secreta adipocinas e interleucinas especialmente IL-6 y TNF alfa. Estas dos últimas citocinas participan también en el proceso inflamatorio crónico bronquial propio del asma<sup>15</sup>.

En el caso de la resistina, es una molécula descubierta hace menos de 10 años, sintetizada por un gen presente en el cromosoma 19 cuyos trabajos respecto a su participación en la fisiopatología del asma y la obesidad es poco conocida. Investigaciones recientes han postulado que podría regular el gen que sintetiza IL-6 y TNF $\alpha$ , a través del NF $\kappa$ B<sup>27</sup>.

Nuestros resultados muestran que los pacientes asmáticos obesos, con asma moderada-severa, presentan concentraciones significativamente mayores de resistina

que los pacientes asmáticos no obesos ( $p < 0.0001$ ) particularmente en mujeres. Los individuos sanos no presentan concentraciones de resistina detectables.

Los resultados de la concentración sérica de IL6 y TNF $\alpha$  mostraron mayores concentraciones en pacientes asmáticos obesos que en pacientes asmáticos no obesos ( $< 0.0001$ ) y ambos grupos de pacientes presentaron concentraciones más elevadas que los sujetos sanos (ver cuadro 5)

Se ha demostrado que IL-6 y el TNF $\alpha$  son moléculas características de una respuesta Th2 a nivel pulmonar y participan de forma muy importante en el proceso inflamatorio sistémico crónico presente en la obesidad, lo que podría explicar los resultados obtenidos en nuestro trabajo.

Las concentraciones de E-selectina y VCAM-1 muestran concentraciones similares en pacientes asmáticos obesos y no obesos, sin embargo llama la atención que las concentraciones en ambos grupos son similares a las obtenidas en las muestras analizadas de sujetos sanos.

Existen diversos estudios que demuestran que los sujetos expuestos a contaminantes ambientales presentan aumento en la concentración de estas moléculas de adhesión<sup>28</sup> y el grupo control de sanos en nuestro estudio están expuestos a altos niveles de contaminantes en la ciudad de México lo que podría explicar estos resultados (cuadro 6)

Existen diversos factores como además del género que modifican los niveles séricos de resistina, la tiazolidinedionas, insulina, glucocorticoides y hormona de crecimiento que sería interesante abordar en trabajos posteriores. Dado que la obesidad y la resistina se asocian con el síndrome de resistencia a la insulina, de acuerdo a nuestros resultados sería necesario analizar en trabajos posteriores si los pacientes asmáticos obesos presentan alguna alteración en la regulación de la glucosa, insulina y

hemoglobina glucosilada, como una característica subyacente al aumento de estas citocinas y moléculas de adhesión y evaluar la posible concentración de las mismas como marcadores pronósticos del asma y severidad de la misma.

## **Conclusión**

La resistina, IL-6 y el TNF $\alpha$  son moléculas proinflamatorias que se encuentran significativamente elevadas en pacientes con asma moderada a severa y obesidad. Hay una relación directamente proporcional entre el IMC y la severidad del asma.

De acuerdo a nuestros resultados, el incremento de estas citocinas producidas inicialmente por la acumulación de tejido adiposo y la inflamación crónica presente en los individuos con IMC mayor de 30, se puede afirmar que el TNF $\alpha$  puede ser un factor que desencadene un proceso asmático y tenga un papel fundamental en el desarrollo y severidad. Por otro lado encontramos que el incremento-activación del tejido adiposo y el asma comparten citocinas proinflamatorias comunes y parecen estar en relación con el incremento de moléculas de adhesión solubles, lo que incrementa un posible daño mediado por el sistema inmune innato en el individuo con obesidad.

## Bibliografía

1. Lenfant C, Khaltaev N Global Strategy for Asthma Management and Prevention NIH Publication No 02-3659 Issued January, 1995 (updated 2002)
2. Maddox L, Schwartz D. The Pathophysiology of asthma. *Annu. Rev Med* 2002;3:477-498
3. Lemanske RF, Busse WW. Asthma. *JAMA* 1997;278:1855-1873
4. Los H, Koppelman G, Postma D The importance of genetic influences in asthma. *Eur Respir J* 199;14:1210-27
5. Hall IP. Genetic factors in asthma severity. *Clin and Exp Allergy* 1998;28 Suppl 5:16-20
6. Christodououlos P., Cameron L., Durham S., Molecular pathology of allergic disease II: Upper airway Disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000:105;211-23
7. Burton , J.L., Kehrli, Jr M.E. et al Regulation of L-selectin and CD 18 on bovine neutrophils by glucocorticoids: effects of cortisol and dexamethasone. *J. Leukocyte* 1995:57;317-325
8. Wegner, C.,D., Gundell, R.,H., Hayness, et al Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma 1990:247;456-459
9. Abraham, WM., Sielczack, M.W., Cortes A et al  $\alpha^4$ -Integrins mediate antigen-induced late bronchial responses airway hyperresponsiveness in sheep. *J.Clin. Invest* 1994:93;776-787
10. Nakajima H., Sano, H., Yoshida, S., Role of vascular cell adhesion molecule 1/very late activation antigen 4 and intercellular adhesion molecule 1/lymphocyte function- associated antigen 1 interactions in antigen-induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. *J. Exp. Med* 1994:179;1145-1154
11. Gómez DH, Vázquez M, Fernández C. Obesidad en adultos derechohabientes del IMSS Encuesta Nacional de Salud 2000. *Rev Med IMSS* 2004 ;43(3):239-345
12. Vázquez GJ. Obesidad y asma. *Revista de Investigación Clínica* 2002;54(5):453-461
13. Shaheen SO, Sterne AC, Montgomery SM Azima Hossain. Birth weight body mass index and asthma in young adults. *Thorax* 1999;54:396-402

14. Zeledon JC, Palmer JL, Litonja AA body Mass Index and asthma in adults in families of subject with asthma in Anging china. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1835-1840
15. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307–12.
16. Bullo M, Garcia Lorda P, Megias I. *Obes Resp* 2003;11(4): 525-31
17. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307–12.
18. Kawashima J, Tsuruzoe K, Motoshima H. Insulin downregulates resistin mRNA through the synthesis of protein(s) that could accelerate the degradation of resistin mRNA in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia* 2003; 46: 231–40.
19. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307–12.
20. Rajala MW, Lin Y, Ranalletta M . Cell type-specific expression and coregulation of murine resistin and resistinlike molecule-alpha in adipose tissue. *Mol Endocrinol* 2002; 16: 1920–30.
21. Lehrke M, Muredach P, Rader D. An Inflammatory Cascade Leading to Hyperresistinemia in Humans *PLOS Medicine* 2004;1:161-168
22. Jarvis D, Chinn S, Potts J Association of body mass index with respiratory symptoms and atopy: results from the European Community Respiratory Health Survey. *Clin Exp Allergy* 2002;32(6):831-7
23. Norma Oficial Mexicana para el manejo integral de la Obesidad. NOM-174-SSA1-1998
24. Tornero P. Las pruebas alérgicas: in vivo e in Vitro. En: Peralta R, Vivas E. *Piel y alergia*. Madrid, Ediciones Díaz de Santos. 1997;157-174
25. American Lung Association. Trends in asthma morbidity and mortality. Updated April 2004. Available at: <http://www.lungusa.org/atf/cf/>
26. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M et al Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-1808
27. Bokarewa M. Nagaev I, Dahlberg L. et al Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005;174:5789-5795
28. Ando M, Shima M, Adachu M et al The role of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1),vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), and regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES) in the relationship

between air pollution and asthma among children. Arch Environ Health  
2001;56:227-33



## Anexos

**Cuadro 4 Características demográficas**

	<b>AO (n = 15)</b>	<b>A (n = 15)</b>	<b>S (n = 15)</b>
<b>Género (M/F)</b>	<b>2/13</b>	<b>0/15</b>	<b>10/5</b>
<b>Edad (años)</b>	<b>35.7</b>	<b>33.4</b>	<b>31.3</b>

AO: Obesos asmáticos; A: Asmáticos; S: Sanos

**Cuadro 5. Asmáticos con obesidad vs. Asmáticos**

	<b>AO (n = 15)</b>	<b>A (n = 15)</b>	<b><i>p</i></b>
<b>Género (M/F)</b>	<b>2/13</b>	<b>0/15</b>	
<b>Resistina (pg/mL)</b>	<b>1137.21±150.55</b>	<b>96.94±5549</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<b>4936±1172</b>	<b>2.12±1.35</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>E-selectina (pg/mL)</b>	<b>11009.94±2990.62</b>	<b>12775.28±2756.91</b>	<b>0.104</b>
<b>VCAM-1 (pg/mL)</b>	<b>5897.78±197.94</b>	<b>6049.31±281.75</b>	<b>0.09</b>
<b>TNFα (pg/mL)</b>	<b>101.91±22.28</b>	<b>85.77±14.60</b>	<b>0.026</b>

OA: Obesos asmáticos, A: Asmáticos

**Cuadro 6. Asmáticos con obesidad vs. Individuos sanos**

	<b>AO (n = 15)</b>	<b>S (n = 15)</b>	<b>p</b>
<b>Género(M/F)</b>	<b>2/13</b>	<b>10/5</b>	
<b>Resistina (pg/mL)</b>	<b>1137.21±150.55</b>	<b>0.00</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<b>49.36±11.72</b>	<b>1.06±1.40</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>E-selectina (pg/mL)</b>	<b>11009.94±2990.62</b>	<b>11695.69±2779.12</b>	<b>0.520</b>
<b>VCAM-1 (pg/mL)</b>	<b>5897.78±197.94</b>	<b>5897.78±197.94</b>	<b>0.878</b>
<b>TNFα (pg/mL)</b>	<b>101.91±22.28</b>	<b>70.18±16.36</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>IMC</b>	<b>35.65±4.52</b>	<b>23±2</b>	<b>&lt;0.001</b>

OA: Obesos asmáticos, S: Sanos, IMC: Índice de masa corporal

**Cuadro 7. Asmáticos vs. Individuos sanos**

	<b>A</b> <b>(n = 15)</b>	<b>S</b> <b>(n = 15)</b>	<b>p</b>
<b>Género(M/F)</b>	<b>0/15</b>	<b>10/5</b>	
<b>Resistina (pg/mL)</b>	<b>96.43± 57.55</b>	<b>0.00</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<b>2.12±1.35</b>	<b>1.06±1.40</b>	<b>&lt;0.043</b>
<b>E-selectina</b> <b>(pg/mL)</b>	<b>12775.28±2756.91</b>	<b>11695.69±2779</b>	<b>0.295</b>
<b>VCAM-1 (pg/mL)</b>	<b>6049.31±281.75</b>	<b>5880.74±376.44</b>	<b>0.176</b>
<b>TNFα (pg/mL)</b>	<b>85.77±14.60</b>	<b>70.18±16.36</b>	<b>0.01</b>
<b>IMC</b>	<b>24.47±2.57</b>	<b>23±2</b>	<b>0.01</b>

A: Asmáticos, S: Sanos IMC: Índice de masa corporal