



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**PERFIL DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS Y
ANTIINFLAMATORIAS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS
CON SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

CAMPO DE ESTUDIO PRINCIPAL:

GASTROENTEROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

Rodrigo Vázquez Frías

Tutor principal:

D. en C. Teresa I. Fortoul Van Der Goes

Coordinadora de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, UNAM



MÉXICO, D. F

Julio 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

D. en C. Teresa I. Fortoul Van Der Goes

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Onofre Muñoz Hernández

RESPONSABLE DE LA UNIDAD

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Rodrigo Vázquez Frías

ALUMNO

INTEGRANTES DEL MIEMBRO DEL JURADO

**Dra. María del Carmen Martínez García
PRESIDENTE**

**Dr. Juan Garduño Espinosa
SECRETARIO**

**Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes
VOCAL**

**Dr. Luis Felipe Montaña Estrada
SUPLENTE**

**Dra. Esperanza Gabriela Gutiérrez Reyes
SUPLENTE**

Durante los estudios de maestría y realización del presente trabajo de tesis, se contó con el apoyo de la Beca de CONACYT para Posgrado de excelencia.

ÍNDICE

Antecedentes	3
Planteamiento del problema	11
Justificación	11
Hipótesis	12
Objetivos	12
Material y Métodos	13
Análisis estadístico	19
Aspectos éticos	19
Consideraciones de bioseguridad	20
Resultados	21
Discusión	23
Conclusiones	27
Referencias bibliográficas	28
Anexos	32

ANTECEDENTES

Los trastornos funcionales del tubo digestivo se presentan en cualquier etapa de la vida; en pediatría, los escolares y adolescentes son los que manifiestan con mayor frecuencia síntomas correspondientes a un trastorno funcional, uno de los más frecuentes corresponde al síndrome de intestino irritable (SII).

Dado que existe una gran diversidad de trastornos funcionales, se han establecido criterios bien definidos para identificarlos, los cuales son conocidos como criterios de Roma III. Estos permiten diferenciar claramente entre un trastorno funcional y un orgánico y se han clasificado de acuerdo a cada grupo etario.

De acuerdo a los criterios de Roma III, el SII se define como sensación de molestia o dolor abdominal que se presenta por lo menos una vez a la semana en los dos meses previos al diagnóstico, asociado con dos de las siguientes características en al menos el 25% del tiempo: (a) mejora con la defecación, (b) su inicio está asociado con cambios en la frecuencia de las evacuaciones y (c) su inicio está asociado con cambio en la forma (aparición) de las evacuaciones. Lo anterior sin evidencia de un proceso inflamatorio, anatómico, metabólico o neoplásico que explique la sintomatología del paciente.¹ En cuanto a su forma de presentación clínica se clasifica al SII de acuerdo al tipo de cambio predominante en las evacuaciones, de tal forma que puede ser predominantemente diarrea (SII-d), predominantemente constipación (SII-c) o patrón mixto (SII-m).

El SII es una entidad común en pediatría, en los países de occidente se diagnostica en el 0.2% de los preescolares, en el 22%-45% de niños entre 4 y 18 años que acuden a clínicas de tercer nivel. No hay datos en México sobre la prevalencia en población pediátrica.

Dentro de su fisiopatología, se encuentran implicados múltiples mecanismos. Uno de los primeros estudiados es la hipersensibilidad visceral, la cual es consecuencia de una alteración en el eje cerebro intestino muy probablemente modulada por factores genéticos que regulan las respuestas inflamatorias e inmunológicas locales a diversos procesos como son infecciones, trauma intestinal

o alergia y que a su vez provocan desórdenes en la motilidad intestinal, traducidos clínicamente como diarrea o estreñimiento asociados o no a dolor abdominal.²⁻⁵ Sin embargo también entran en juego otros múltiples factores, psicológicos, alteraciones de motilidad e inflamatorios en su fisiopatología.

Factores psicológicos

La ansiedad, depresión y múltiples desórdenes somáticos han sido reportados en niños con SII y sus familiares. El aprendizaje social del comportamiento de esta disfunción puede contribuir al desarrollo del SII. Datos concluyentes de que las terapias psicológicas y de comportamiento, tales como la hipnosis, producen resultados significativos en la mejoría de los síntomas cardinales del SII en la mayoría de los pacientes, apoyan la participación del componente psicossociales en la fisiopatología del SII.⁶

Trastornos en la motilidad intestinal asociados al SII

En el SII, la diarrea puede ocurrir como resultado de múltiples mecanismos colónicos, incluidos las contracciones propagadas de gran amplitud (CPGA) y una respuesta gástrica incrementada (actividad motora rectosigmoidea prolongada en respuesta a los alimentos) o hipersensibilidad rectal. La constipación puede ser secundaria al aumento de las contracciones segmentarias (no propulsivas) o a la disminución de las CPGA. En diversos estudios, se ha documentado que el tránsito intestinal se encuentra aumentado en los pacientes con la variante del SII diarrea y disminuido en la del SII constipación.^{2,4} El dolor abdominal en el SII también puede estar asociado con las CPGA. Un incremento en las contracciones fásicas intestinales, tanto en el íleo terminal como en el colon, ha sido observado como respuesta a la distensión, a la ingesta de alimentos ricos en grasas y al estímulo con colecistocinina en pacientes con SII.⁷ La motilidad colónica se puede incrementar por estrés, enojo y como respuesta a múltiples hormonas (adrenalina, CRH, etc.), pero ninguno de estos desórdenes en la motilidad pueden ser usados como marcadores diagnósticos del SII.^{4,8} Es posible que las alteraciones motoras sean secundarias, más que primarias, en este desorden.

Hipersensibilidad visceral y SII

Varios mecanismos están implicados en la hipersensibilidad visceral: el efecto modulador anormal del SNC en respuesta a la información que llega del intestino, la hiperexcitabilidad de las neuronas de la raíz dorsal y la sensibilización de las terminales nerviosas sensitivas en este órgano. Al parecer, la inflamación de bajo grado es el mecanismo subyacente de esta hipersensibilidad de la pared intestinal, ya que numerosos estudios han demostrado la existencia de un número elevado de mastocitos en la mucosa del íleo terminal, ciego, colon y recto de individuos con SII.⁹⁻¹¹ Desde hace más de 30 años se ha demostrado que la distensión a nivel del recto, por ejemplo con un balón de baróstato, con volúmenes bajos, induce dolor abdominal en pacientes con SII. Esta observación ha dado lugar a la teoría de que la hipersensibilidad colónica es un marcador biológico útil del SII, no obstante, este no es un hallazgo universal y solo afecta a un 60% de los pacientes.¹²

Inflamación y SII

La mucosa del intestino normal se encuentra de forma crónica en un ambiente de estímulos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios, balance que se mantiene entre los organismos entéricos comensales y el sistema inmune del hospedero.⁴ Un desbalance de estos estímulos puede llevar a un estado de inflamación y es probable que las infecciones, el desequilibrio en la microflora intestinal, la alteración en la reabsorción de ácidos biliares y los antígenos alimentarios pudieran contribuir a esta alteración. Los estados inflamatorios intestinales, independientemente de los eventos específicos que la iniciaron, comparten vías inmunológicas comunes de mediación de daño tisular y reparación.¹³ El incremento en el conocimiento, aunque aún grandemente inexplorado, de la interacción de la flora bacteriana-mucosa intestinal, ha llevado a fortalecer el papel que juega la respuesta inmune en la disfunción neuromuscular entérica.⁴ Se sabe que entre un 7% y un 30% de los pacientes que se han recuperado de un episodio probado de enteritis bacteriana, desarrollan SII y el riesgo se incrementa si la

enfermedad dura más de 3 semanas, si los microorganismos involucrados son toxigénicos o si los pacientes presentan alteraciones psicosociales.

Eventos de inflamación aguda pueden llevar a cambios en la sensibilidad visceral y en la motilidad resultado de un evento infeccioso inicial. Estos cambios parecen ser mediados al menos en una parte por mecanismos locales inmunológicos, tal y como lo sugieren datos de Spiller y colaboradores, los cuales, encontraron un incremento en el número de linfocitos intraepiteliales y células enteroendocrinas en la mucosa rectal, así como un incremento en la permeabilidad de la misma en pacientes con SII post infeccioso.¹⁴ Aún así, en pacientes con SII, sin historia de infección gastrointestinal, la activación del sistema inmunológico a nivel de la mucosa ha sido implicada en la patogénesis de los síntomas, tal y como lo comprueba Chadwick y cols.¹⁵

Está demostrado en múltiples estudios que las células inflamatorias, tales como los mastocitos y linfocitos T activados, están aumentadas en número con respecto a lo normal en la mucosa de un grupo de pacientes con SII, lo que sugiere un estado de inflamación de bajo grado.⁴ Además, la infiltración linfocitaria del plexo mientérico asociado con degeneración neuronal se ha observado en pacientes con SII grave, así como un incremento en el número de mastocitos en la capa muscular externa del intestino. La activación de los mastocitos, mediada por IgE o no (toxinas bacterianas, mediadores inflamatorios, distensión mecánica e incluso manipulación del intestino delgado), da lugar a la secreción de productos previamente formados como la serotonina (5-Hidroxitriptamina, 5-HT) histamina, proteasas, bradicininas, adenosina y factores de crecimiento neural poco conocidos así como la síntesis de novo de interleucinas (IL) IL-1, IL-6, IL-8 Interferón- γ (IFN- γ), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), entre muchas otras.^{3,4,16}

Es de particular interés el papel primordial que juega la 5-HT en las manifestaciones del SII: más del 95% de la serotonina se localiza en las células enteroendocrinas del intestino y ésta se libera cuando existe distensión o incremento de la presión en la pared del intestino como sucede después de una comida; la 5-HT actúa en las neuronas aferentes intrínsecas para iniciar el reflejo

peristáltico por medio de la activación de la excitación ascendente e inhibición descendente. Existe evidencia de que una liberación exagerada de 5-HT en los pacientes con SII puede ocurrir después de una comida. Se ha observado en biopsias rectales que existen alteraciones en la señalización y disminución de la recaptura de la 5-HT en un grupo de pacientes con SII, principalmente con diarrea como síntoma predominante.⁴

Las citocinas son proteínas producidas por la activación de células inmunológicas que influyen en la actividad, diferenciación y proliferación de otras células. Estas proteínas juegan un papel en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), pero también en otros estados de lesión tisular tales como enterocolitis infecciosa, enfermedad celiaca, gastroenteritis eosinofílica y recientemente también descritas en el SII.^{13,16} La mayoría de los estudios han enfatizado la habilidad de las citocinas en inducir y regular la inflamación. Algunas, como el TNF- α , el IFN- γ , IL-1 β y la IL-12 son proinflamatorias, mientras que otras como la IL-4, IL-10 y factor de crecimiento transformante beta₁ (TGF- β ₁) son antiinflamatorias.¹³

La IL-1 β usualmente se encuentra en niveles por debajo de su detección (40 pg/mL) en sujetos normales, salvo en mujeres que recientemente han ovulado, o personas que se han sometido a un ejercicio extenuante, pero es detectable en pacientes con sepsis, rechazo agudo a órgano o exacerbaciones de artritis reumatoide. La IL-1 β , junto con el TNF- α (un estimulador de la producción de IL-1 β) tienen un efecto proinflamatorio y desencadenante del fenómeno séptico al incrementar las concentraciones plasmáticas de pequeñas moléculas mediadoras tales como el factor activador de plaquetas, prostaglandinas y óxido nítrico. Otros efectos de la IL-1 β , específicamente en la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) han sido descritos, tales como la producción de eicosanoides inflamatorios (prostaglandina E2 y leucotrieno B4) y su habilidad para estimular la producción de IL-8, una citocina proinflamatoria con propiedades estimulantes y quimiotácticas de los neutrófilos. El incremento de IL-1 β e IL-8 en pacientes con EII es resultado de la producción de éstas por células mononucleares de la lámina propia de la

pared intestinal. En el SII post infeccioso, Gwee y colaboradores demostraron un incremento de la expresión en la mucosa rectal del RNAm de IL-1- β .¹⁷

Existen diversos agentes que disminuyen la producción de IL-1 β tales como los corticosteroides, TGF- β , IL-4 e IL-10; estas tres últimas, citocinas de carácter antiinflamatorias.^{18,19} La función de estas citocinas se ve ejemplificada por la supresión de la proliferación de linfocitos debido el efecto de TGF- β , la supresión de macrófagos por la IL-4, así como por la inhibición de la proliferación linfocitaria TH-1 y mediante la inhibición en la producción de otras citocinas mediadas por la IL-4 e IL-10.¹³ Por otro lado, los datos obtenidos del estudio de Gebhardt y cols indican que el TGF- β_1 actúa como un potente inhibidor y modulador de los mastocitos, de tal forma que este estudio confirma lo que se ha referido en otros artículos, acerca de que el TGF- β_1 es una citocina antiinflamatoria que se expresa constitutivamente en el intestino.²⁰ No hay datos en la literatura sobre su expresión en pacientes con SII.

Debido a que el SII se considera un estado leve que forma parte de un espectro grande de inflamación intestinal en la que su contraparte sería la EII y que se ha demostrado que en esta la expresión de citocinas juega un papel importante en su fisiopatología es posible que estas también participen en la fisiopatología del SII.

En un estudio O'Mahony y cols., encontraron diferencias en los niveles en sobrenadante de cultivo de monocitos de IL-10 (citocina antiinflamatoria) e IL-12 (citocina proinflamatoria) en pacientes adultos con SII, comparados con controles sanos. Los niveles de IL-10 fueron menores en pacientes con SII (575 ± 108 pg/mL vs. 968 ± 220 pg/mL), mientras que los niveles de IL-12 estuvieron incrementados en los pacientes con SII (15 ± 2 pg/mL vs 6 ± 4 pg/mL). El índice IL-10/IL-12 en el grupo de SII fue de 69 ± 15 mientras que en los controles fue de 176 ± 31 con una $P=0.003$.²¹ Este hallazgo apoya las observaciones previas relacionadas con el componente inflamatorio en la patogénesis del SII.

En otro estudio llevado a cabo por Dinan y cols., en el cual se analizaron 49 pacientes adultos con SII y 48 controles, en el que se evidenció que los pacientes con SII tienen una respuesta al estrés exagerada (liberación de ACTH y cortisol secundario a la administración de la hormona liberadora de corticotropina), se mostró que existe de forma basal un aumento en los niveles de las citocinas proinflamatorias IL-6 e IL-8 (las cuales son potentes activadores del eje hipotalámico-hipofisiario) en los pacientes con SII. Los niveles basales de IL-10 y de TNF α fueron menores y mayores respectivamente en los pacientes con SII con respecto a los controles, pero sin diferencia estadísticamente significativa.⁸

Existen evidencias puntuales limitadas, pero en incremento, de que al menos existe un componente hereditario en el SII. La producción de citocinas se encuentra bajo control genético y se sabe que la secreción de TNF- α está asociada con el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés: single nucleotid polymorphism) en la región promotora del gen de TNF- α , al ocurrir una sustitución en la posición -308 de guanina (g) por una adenina (A). El ser portador del alelo A (A/A o G/A) está asociado con un incremento en la producción de TNF- α . (22) Así mismo la producción de IL-10 está asociada con SNP en las posiciones -1082 (G \rightarrow A) y -819 Citosina (C) \rightarrow Timina (T). La predisposición genética para una producción baja de IL-10 (A/A para el SNP -1082 y T/T para el SNP -819) está asociado con enfermedad inflamatoria intestinal.^{22,23}

Gonsalkorale y cols., demostraron en un estudio de 230 pacientes adultos con SII y 450 controles sanos, que al menos un grupo de pacientes con SII están genéticamente predispuestos a producir niveles bajos de la interleucina antiinflamatoria IL-10. Así mismo evidenciaron que el genotipo de gran productor de IL-10 (SNP -1082 G/G) es significativamente menos prevalente en los pacientes con SII comparado con controles sanos.²⁴

Otros estudios como en el de van der Veek y cols., que estudiaron 111 pacientes adultos con SII y los compararon con 162 controles sanos, encontraron que el genotipo G-308^a para TNF- α , es decir portador del alelo A, ya sea de forma

heterocigoto o monocigota, fue significativamente más prevalente en los sujetos con SII. Así mismo, demostraron que ser portador al mismo tiempo del genotipo de gran productor de TNF-alfa y el genotipo G-1082A de pobre productor de IL-10 (es decir homocigoto para ausencia de G), es un factor de riesgo para SII, ya que fue significativamente más prevalente en los sujetos con SII, principalmente SII-d.²⁵

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la fisiopatología del SII la inflamación parece jugar un papel importante. Las evidencias a favor de esta teoría son alteraciones morfológicas en mucosa colónica y alteración en el balance de las citocinas pro y antiinflamatorias tanto a nivel sérico como tisular. Estas evidencias han sido documentadas tanto en animales de experimentación como en adultos y se han limitado al análisis de IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 y TNF- α , como proinflamatorias y solo IL-10 como citocina antiinflamatoria. Sin embargo aún queda pendiente determinar el comportamiento de TGF- β , como citocina anti o proinflamatoria y aún más, no se conoce si las alteraciones encontradas en los niveles de estas citocinas en adultos con SII se presentan de igual forma en los niños con SII, por lo que hemos establecido la siguiente pregunta de investigación:

En los pacientes pediátricos con SII:

- ¿Serán los niveles séricos de citocinas proinflamatorias, IL-12 y TNF- α significativamente mayores y los de la citocina antiinflamatoria IL-10 significativamente menor en comparación con los de un grupo control?
- ¿Será significativamente diferente el índice IL-10/IL-12 del grupo de pacientes pediátricos con SII en comparación al de un grupo control?
- ¿Serán significativamente diferentes los niveles séricos de TGF- β en comparación con los de un grupo control?

JUSTIFICACIÓN

El SII en pediatría es causa frecuente de ausentismo escolar y laboral, el manejo de esta entidad hasta ahora es complejo y generalmente sintomático. Hasta ahora no existe un tratamiento farmacológico específico, debido a que están involucrados muchos mecanismos en su fisiopatogenia, muchos de ellos aún poco explorados. Las evidencias recientes parecen sugerir que el SII tiene un origen inflamatorio en donde las citocinas juegan un papel importante, si esto logra documentarse contundentemente, es posible que puedan definirse nuevas estrategias específicas de tratamiento.

Dado que el Hospital Infantil de México Federico Gómez es un centro de referencia nacional y el SII es un motivo frecuente de consulta gastroenterológica, es factible la realización del presente estudio y los resultados del mismo probablemente aporten más información que permita despejar las interrogantes planteadas en relación al papel de las citocinas en el SII.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS GENERAL

Los niños con SII tienen niveles plasmáticos de citocinas proinflamatorias IL-12 y TNF- α significativamente mayores y de citocina antiinflamatoria IL-10 significativamente menores cuando se comparan con los de un grupo control.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

El índice IL-10/IL-12 del grupo de pacientes pediátricos con SII será significativamente menor, que el del grupo control.

Los niños con SII tienen niveles plasmáticos diferentes de citocina TGF- β en comparación con niños normales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar los promedios de los niveles plasmáticos de citocinas IL-12, TNF- α , IL-10 y TGF- β en pacientes pediátricos con SII vs. un grupo control.

OBJETIVO ESPECIFICO

Comparar el promedio del índice IL-10/IL-12 del grupo de pacientes pediátricos con SII con el del grupo control.

MATERIAL Y MÉTODOS

I. DISEÑO DE ESTUDIO:

El diseño del estudio es transversal comparativo.

II. FUENTES PARA LA OBTENCIÓN DE PACIENTES:

Universo: Pacientes pediátricos con SII que acudan al Hospital Infantil de México Federico Gómez, SSa.

III. MÉTODO DE MUESTREO:

No probabilístico, por conveniencia. Se obtendrán controles sanos.

IV. TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Considerando la diferencia encontrada entre los niveles de citocinas IL-10 (se ejemplifica) y de IL-12 en un trabajo previo en adultos (O'Mahony, et al²¹), se realizó un cálculo de muestra utilizando el promedio entre dos grupos, con un alfa 0.05 y un poder del 95%, a través del programa estadístico STATA 9.2 y aplicando la siguiente fórmula para comparación de medias de dos muestras utilizando una muestra de dos colas obteniendo cinco casos por grupo.

$$n = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{\Delta^2}$$
$$n = \frac{([108]^2 + [220]^2) (1.96 + 1.65)^2}{(|575-968|)^2}$$

$$n = 5.06 \text{ por grupo}$$

Tomando en cuenta las diferencias del índice IL-10/IL-12 se obtiene una n de uno por grupo. Al considerar las diferencias encontradas para TNF α considerando el mismo alfa y poder se obtienen ocho pacientes por grupo.

V. CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

GRUPO PROBLEMA: Pacientes mayores de 4 años hasta 17 años 11 meses con SII de acuerdo a los criterios de Roma III.¹

GRUPO CONTROL: Pacientes asintomáticos, sin alteración alguna a la exploración física.

Que el padre o tutor haya aceptado la participación de su hijo en el estudio a través del consentimiento informado. En los casos en los que el niño(a) fue mayor de 8 años firmó carta de asentimiento.

Criterios de exclusión

Que el menor estuviera cursando con desnutrición o sobrepeso de acuerdo a las tablas de la OMS y NCHS.

Que el menor estuviera cursando con un proceso infeccioso gastrointestinal o fueran portadores de alteración inmunológica o alérgica.

VI. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO DE TODO EL ESTUDIO:

Los pacientes del grupo de niños con SII fueron reclutados de la consulta externa de Gastroenterología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, que es un Instituto Nacional de Salud, enviados del servicio de Clasificación. Una vez en la consulta externa fueron evaluados por alguno de los investigadores (RVF, ACS), realizándoseles una historia clínica completa que incluyó interrogatorio de antecedentes y de padecimiento actual, así como una exploración física detallada. Aquellos pacientes con diagnóstico clínico de SII se les solicitaron citometría hemática, examen general de orina, exámenes coproparasitológicos (en serie de 3), así como antígeno fecal para *Giardia intestinalis*. Se citaron dentro de las próximas 72 horas al cuarto de procedimientos de Gastroenterología-Nutrición para revisión y si cumplían con los criterios de selección fueron considerados como

participantes. Se les invitó a participar en el estudio a través de la carta de consentimiento informado que firmaron los padres o el (la) tutor(a) de los pacientes; en caso de que el niño(a) haya sido mayor de ocho años firmó la carta de asentimiento (*ver anexos 1 y 2*) los cuales se encuentran integrados en los archivos del departamento. Se les tomó una muestra sanguínea (5 ml) mediante venopunción, en ayuno. Este grupo constituyó el grupo problema (SII).

El grupo control se obtuvo de niños y adolescentes sanos del área metropolitana y de una escuela primaria-secundaria-preparatoria del distrito federal. Se convocó mediante una circular a los padres de los niños y adolescentes a participar en el estudio. Aquellos niños cuyos padres aceptaron participar en el estudio se les otorgaron una consulta pediátrica general y se les invitó a participar en el estudio mediante el consentimiento informado y en caso de que el niño(a) fuera mayor de ocho años firmó la carta de asentimiento. La muestra se tomó en el mismo lugar en donde fueron examinados.

Las muestras obtenidas se trasladaron al laboratorio de bacteriología intestinal del HIMFG de forma inicial y posteriormente al Laboratorio de Gastroenterología, en un contenedor para tal fin, para la determinación de citocinas en plasma. (*Ver anexo 3*)

VII. DEFINICIÓN OPERATIVA DE LAS VARIABLES: DEFINICIÓN, INSTRUMENTOS Y ESCALAS DE MEDICIÓN

Variables Demográficas:

- a. **Registro:** número de expediente dentro del archivo del HIMFG
Variable nominal

- b. **Edad:** definido como el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la toma de muestra expresada en meses enteros.

Variable cuantitativa racional

- c. **Género:** sexo masculino o femenino

Variable cualitativa nominal dicotómica

- d. **Niño(a) sano(a):** Paciente asintomático sin alteración alguna en la exploración física con peso y talla normal para su edad.

Variable cualitativa nominal dicotómica

Variables de Estudio:

Variable de resultado

- a. **Síndrome de Intestino irritable:** Se define de acuerdo a los criterios de Roma III como sensación de molestia o dolor abdominal que se presente por lo menos una vez a la semana en los dos meses previos al diagnóstico, asociado a dos de los siguientes características en al menos el 25% del tiempo:

- a) mejora con la defecación;
- b) Inicio asociado con cambios en la frecuencia de las evacuaciones;
- c) Inicio asociado con cambio en la forma (aparición) de las evacuaciones.

Lo anterior sin evidencia de un proceso inflamatorio, anatómico, metabólico o neoplásico que explique la sintomatología del paciente.

Variable cualitativa nominal dicotómica: presente o ausente.

Variables predictoras

- a. **Citocina:** se define como el factor soluble con actividad biológica producido por los linfocitos, macrófagos y en general células inflamatorias que funcionan como moléculas de comunicación

intercelular y mediadores solubles de la inmunidad celular al estimular a las células presentadoras de antígenos y los linfocitos respondedores.²⁶

Se midieron en plasma y su resultado se expresó en pg/mL

Variable cuantitativa racional

Citocinas proinflamatorias: (Definición conceptual y operacional)

IL-12: citocina proinflamatoria producida por macrófagos, que estimula en las células Th1, la síntesis y liberación de IL-2 y de IFN γ . Activa a las células NK, incrementando la producción de IFN γ y su actividad citolítica.

Se midieron en plasma y su resultado se expresó en pg/mL

TNF- α : citocina producida por los macrófagos que induce la apoptosis de las células tumorales que sobreexpresan el receptor TNFR. Estimula en los macrófagos la producción de óxido nítrico y funciona como un potente quimioatrayente de neutrófilos. Activa la función de los macrófagos, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, células endoteliales y otras células.

Se midieron en plasma y su resultado se expresó en pg/mL

Citocinas antiinflamatorias:

IL-10: Citocina producida por los linfocitos Th2 que inhibe la síntesis de IFN γ , IL-2 y TNF α por los linfocitos Th1. Suprime la producción de las citocinas derivadas de macrófagos y otras células presentadoras de antígenos. Inhibe la producción de radicales libres de oxígeno y el nitrógeno por los macrófagos.

Se midieron en plasma y su resultado se expresó en pg/mL

TGF- β : citocina producida por los linfocitos Th1 que actúa como reguladora de la actividad de los linfocitos y que presenta actividad reguladora.

Se midieron en plasma y su resultado se expresó en pg/mL

- b. **Índice IL-10/IL-12:** se define como la división algebraica del valor numérico de IL-10 entre el valor numérico de IL-12.

Variable cuantitativa racional

VIII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO (ALCANCE DEL CONOCIMIENTO QUE SE PRETENDE OBTENER)

Se evidenció que existe aumento de los niveles de citocinas proinflamatorias y disminución en los niveles de citocinas antiinflamatorias en pacientes con SII cuando se comparan con niños sanos. Esto permite continuar con esta línea de investigación con el objetivo de establecer si los fenómenos inflamatorios son parte fundamental de la fisiopatología del SII. De acuerdo a esos resultados se podrán proponer nuevas estrategias de tratamiento en estos pacientes; probablemente la utilización de probióticos, con un efecto inmunomodulador específico, pueda ser una alternativa a futuro de estos pacientes.

IX. TECNOLOGÍA UTILIZADA

Campana de flujo laminar

Lector de ELISA

X. INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos demográficos se registraron en la hoja de recolección de datos (*Anexo 4*) y se transcribieron a una base de datos dentro del programa de SPSS 16.0. Los niveles séricos de citocinas se captaron directamente en dicha base.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se recolectaron y analizaron independientemente a los investigadores, los cuales no tuvieron acceso a los datos o a los análisis hasta después de que fueron completados. Se realizaron frecuencias y proporciones

para variables nominales y se realizaron medidas de tendencia central y dispersión para variables continuas. El análisis de proporciones se realizó mediante prueba de Chi cuadrada o Exacta de Fisher. En caso de los niveles de citocinas se analizaron con una prueba de **t** de student para grupos independientes con una distribución es normal, utilizando el programa SPSS versión 16, teniendo como significancia $P < 0.05$.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo al tipo de investigación e intervención que se realizó y debido a que es un estudio transversal y que solo consistió en la extracción de sangre por punción venosa, no presentó mayores implicaciones éticas y se consideró un estudio con riesgo mínimo. Como eventos adversos al mismo se encontraron el dolor al momento de la punción, lo cual se le explicó previamente tanto al paciente como a los familiares. No se produjeron hematomas secundarios a la punción y extravasación de sangre. Con la finalidad de ofrecer algún beneficio directo a los niños sanos participantes se les realizó un perfil metabólico completo que incluyó citometría hemática, glucemia, colesterol y triacilglicéridos séricos, grupo y Rh sanguíneo, por parte del laboratorio central de esta institución. Dichos resultados fueron interpretados y entregados en un sobre cerrado a los tutores del participante.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

En este estudio se utilizaron agentes biológicos (muestras de tejido sanguíneo) así como también reactivos del tipo de ácidos y bases. Se contó con las instalaciones y equipo necesario para la toma de la muestra. Los productos de RPBI se inactivaron mediante cloración y se desecharon colocándolos en las instalaciones de RPBI del HIPAM. El revelador de ELISA que se utilizó fue el OPD (Ortho Phenil diamina) el cual se procesó de la misma forma que los reactivos utilizados del tipo ácido y base siguiendo las indicaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM 087ECO –SSA1-2002 que se encuentra descrita en el manual de procedimientos

de RPBI Y CRETI del laboratorio de bacteriología y fueron manejados por el personal de RPBI del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

RESULTADOS:

Se incluyeron en el estudio 19 pacientes con SII, correspondiendo 11 al sexo femenino (58%); el promedio de edad fue de 123.8 ± 47.7 meses (intervalo 60-204 meses), con una mediana de edad de 111 meses. En cuanto al grupo etario 4 (21%) pacientes correspondieron a la etapa preescolar, nueve (47%) escolares y seis (31%) adolescentes. En cuanto a los controles sano, se incluyeron 15 niños y adolescentes, nueve del sexo femenino (60%). Con un promedio de edad de 137.5 ± 38.9 (intervalo 98-214 meses), y una mediana de 129 meses. Las características demográficas de ambos grupos se encuentran en la tabla 1. No existieron diferencias significativas basales en cuanto al sexo y edad entre los grupos.

Tabla 1. Datos demográficos.

	SII	Control	P
N	19	15	-
Sexo femenino (%)	58	60	0.730
Edad promedio (meses)	123.8 ± 47.7	137.5 ± 38.9	0.37
Edad mediana (meses)	111	129	0.21

Prueba t de student para grupos independientes

Los niveles plasmáticos de interleucinas, tanto de los pacientes con SII como de los controles se presentan en la tabla 3. Los niveles de interleucina-10 fueron menores en los pacientes con SII (85.56 ± 20.15 vs 118.71 ± 58.62 ; $p=.031$) y los niveles de IL-12 mayores en los pacientes con SII en comparación con el grupo control de pacientes sanos (1118.10 ± 609.67 vs 655.04 ± 557.80 ; $p= .029$). El índice

IL-10/IL-12 fue menor en los pacientes con SII (0.108 ± 0.075 vs 0.295 ± 0.336 ; $p=.098$). En el caso del factor de necrosis tumoral alfa no hubo diferencia entre ambos grupos. Los niveles del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) fueron mayores en los pacientes con SII (524.50 ± 331.39 vs. 208.48 ± 142.21 ; $p=.001$).

Tabla 3. Niveles séricos de interleucinas por grupo de estudio

Interleucina	SII	Control	P
IL-10	85.56 \pm 20.15	118.71 \pm 58.62	0.031
IL-12	1118.10 \pm 609.67	655.04 \pm 557.80	0.029
Índice IL-10/IL-12	0.108 \pm 0.075	0.295 \pm 0.336	0.098
TNFα	259.24 \pm 256.45	174.08 \pm 189.42	0.291
TGFβ	524.50 \pm 331.39	208.48 \pm 142.21	0.001

Las manifestaciones clínicas que presentaron los pacientes con SII se muestran en la tabla 2

Tabla 2. Síntomas al momento del diagnóstico de los 19 pacientes con SII.

Síntoma	N (%)
Dolor abdominal	17 (89.4)
Malestar abdominal	31.5 (6.1)
Diarrea (predominante)	5 (26.3)
Estreñimiento (predominante)	3 (15.7)
Mixto (diarrea y estreñimiento)	11 (57.8)

En cuanto al subtipo de SII el 57.8% correspondió al tipo mixto, el 15.7% con predominio de constipación y el resto con predominio de diarrea.

DISCUSIÓN

El Síndrome de Intestino Irritable (SII), es un trastorno funcional gastrointestinal que se presenta tanto en la población adulta como en la pediátrica. La prevalencia del SII en la población general es e alrededor del 14 al 21%, dependiendo de los criterios utilizados para definir su presencia. En México se ha estimado una prevalencia entre el 17 y 20% en poblaciones selectas de México. Un estudio en voluntarios de la ciudad de México, encontró una tasa de prevalencia de casi el doble de lo anteriormente reportado (35%) con una relación mujer:hombre de 4:1.²⁷ No hay datos sobre la prevalencia en pacientes pediátricos en México. Es un trastorno que afecta principalmente al sexo femenino, tal como se ha demostrado en varios epidemiológicos en población adulta en los cuales se muestra que la prevalencia de SII en las mujeres es de 2.1 a 3.1 veces mayor que en los hombres.^{27,28} Un estudio grande, realizado por Lydeard, et al, reportó una relación mujer:hombre de 1.38:1 en población adulta.²⁹ En el caso de la población pediátrica (niños y adolescentes) los estudios no son tan contundentes. Un estudio reciente en población pediátrica de china en el cual se incluyeron 2013 estudiantes de entre 10 y 18 años, en el cual se encontró una prevalencia de SII de acuerdo a los criterios de Roma III de 20.72% (IC 95%, 18.96–22.55), la incidencia solo fue ligeramente mayor en el sexo femenino (21.06% vs. 20.88), sin mostrar una diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$).³⁰ Un estudio realizado también en China, 5 años antes, en población pediátrica de entre 6 y 18 años, el cual incluyó a 5403 estudiantes si mostró una relación mujer:hombre de 1.8:1.³¹ En nuestro estudio se corrobora el predominio del sexo femenino al presentarse con una relación 1.5:1, sin embargo el tamaño de muestra es muy pequeño y la naturaleza del estudio no permite establecer la prevalencia ni la incidencia reales de este padecimiento en nuestra población.

De forma habitual se clasifica a los pacientes adultos con SII, de acuerdo a el patrón de evacuaciones que se presenta en tres grupos: a) predominantemente diarrea (SII-d), caracterizado por evacuaciones diarreicas en más del 25% de las ocasiones y evacuaciones duras en menos del 25% de las ocasiones; b) predominantemente constipación (SII-c), caracterizado por evacuaciones duras en

más del 25% de las ocasiones y evacuaciones disminuidas en consistencia en menos del 25% de las ocasiones; un tercer tipo denominado patrón mixto o alternante (SII-m) caracterizado por evacuaciones disminuidas en consistencia en más del 25%, pero también evacuaciones duras en más del 25% de las ocasiones.³² En un estudio multicéntrico realizado en México, en el que se incluyeron 1677 pacientes adultos con SII de acuerdo a los criterios de Roma III, se encontró que el 48.4% presentó SII-m, 43% presentó SII-c y un 5.6% con SII-d.³³ Otros tres estudios que le precedieron muestran resultados diferentes. El primero de ellos realizado en voluntarios en la ciudad de México utilizando el Cuestionario Modular de Roma II validado en México, reportó una frecuencia del 35.5% observándose predominio del subtipo SII-c 40.0%, sobre el SII-d con un 32.1%.²⁷ El segundo estudio en población abierta realizado en el Estado de Tlaxcala, en el centro del país, utilizando el mismo instrumento, reportó una frecuencia de SII del 16.0%, con una mayor frecuencia del subtipo alternante (SII-A: 44.0%), seguido por SII-E: 41.0%) y finalmente SII-D: 15.0%).³⁴ En otro estudio realizado en el estado de Veracruz en voluntarios, utilizando los criterios de Roma II, se encontró una prevalencia de SII del 16.7% con una mayor frecuencia de SII-E, (50.0%), seguido por SII-D (30.0%) y SII-A (20.0%).³⁵

Las causas del SII aún son oscuras pero existe evidencia de la participación de múltiples mecanismos fisiopatológicos, todos ellos interrelacionados, tales como factores genéticos, psicosociales, hipersensibilidad visceral, alteraciones de la motilidad e inflamación.^{1, 36}

Una explicación potencial de la fisiopatología del SII es la del estado de inflamación de bajo grado de la mucosa intestinal.³⁶ Los estados inflamatorios intestinales, independientemente de los eventos específicos que la iniciaron, comparten vías inmunológicas comunes de mediación de daño tisular y reparación.¹³

Existe hasta el momento suficiente evidencia que da soporte a esta teoría de inflamación de bajo grado, tal como lo demuestra un reciente revisión sistemática

sobre las evidencias de los procesos inflamatorios a nivel de la mucosa intestinal.³⁶ Esta revisión evidencia los múltiples estudios en los que se reporta que las células inflamatorias, tales como los mastocitos y linfocitos B y T activados, están aumentadas en número con respecto a lo normal en la mucosa de un grupo de pacientes con SII.³⁷ También hay evidencia de incremento en la producción de citocinas a nivel de las mucosas, las cuales pueden ser producto de la activación de mastocitos o de otras células del sistema inmunológico, todas estas, pudiendo formar parte del proceso de inflamación de bajo grado que ocurre en estos pacientes. Sin embargo, es poco probable que estas anomalías sean responsables por completo de la etiología del SII.

Las citocinas son proteínas producidas por la activación de células inmunológicas que influyen en la actividad, diferenciación y proliferación de otras células. Se sabe que estas proteínas juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), el cual representa el estado inflamatorio de mayor gravedad, pero también en otros estados de lesión tisular tales como enterocolitis infecciosa, enfermedad celíaca, gastroenteritis eosinofílica y recientemente también descritas en el SII.^{13,16,38} Dichas citocinas también se encuentran presentes en la sangre, no solo a nivel de la mucosa.

Debido a que el SII se considera un estado leve que forma parte de un espectro grande de inflamación intestinal en la que su contraparte sería la EII y que se ha demostrado que en ésta la expresión de citocinas juega un papel importante en su fisiopatología es posible que estas también participen en la fisiopatología del SII.³⁸

Ya se ha hecho referencia en la literatura médica sobre diferencias en los niveles de citocinas en pacientes adultos con SII cuando se les comparó con sanos. Los niveles de citocinas, en sobrenadante de cultivo de monocitos, antiinflamatoria IL-10 fueron menores y los de pro-inflamatoria IL-12 mayores en pacientes con SII. El índice IL-10/IL-12 en el grupo de SII fue menor que en comparación con sanos. Otros estudios han corroborado el incremento de citocinas pro-inflamatorias tales como IL-6, IL-8, IL-1 β y TNF- α , en el plasma de pacientes adultos.³⁹ Un estudio

reciente demostró que los niveles de citocinas pro-inflamatorias (IL-6 y TNF- α) fueron mayores y de citocina antiinflamatoria (IL-10) menores en pacientes pediátricos con SII con respecto a controles sanos.⁴⁰ En nuestro estudio se muestra que los pacientes pediátricos con SII presentan el mismo comportamiento que en los adultos con respecto a las IL-10 e IL-12, así como en el estudio pediátrico en cuanto a los niveles menores de IL-10 en pacientes pediátricos. Sin embargo en nuestro estudio no se demostró diferencia en los niveles de TNF- α , mas bien, se observó que ambos grupos de niños con y sin SII presentan niveles incrementados de esta citocina, lo cual podría sugerir un estado inflamatorio o de estrés también los niños considerados como sanos y que no presentan ninguna manifestación clínica de este estado de inflamación. Se sabe que el TNF- α tiene un efecto pro-inflamatorio y ha sido claramente implicado como desencadenante del fenómeno séptico al incrementar las concentraciones plasmáticas de pequeñas moléculas mediadoras tales como el factor activador de plaquetas, prostaglandinas y óxido nítrico. En cuanto a su participación en el SII, se ha reportado en otros estudios que ser portador al mismo tiempo del genotipo de gran productor de TNF- α y el genotipo de pobre productor de IL-10 es un factor de riesgo para SII, ya que fue significativamente más prevalente en los sujetos con SII, principalmente SII-d.²⁶

Encontramos los niveles de TGF- β mayores en aquellos pacientes con SII con respecto a los controles, sugiriendo que esta actúa como una citocina pro-inflamatoria. No hay reportes previos sobre el papel que juega TGF- β en la patogénesis del SII. Se sabe que participa en la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal, específicamente en la enfermedad de Crohn, actuando, junto con IL-6 como inductor de las células Th17, productoras de IL-17 e IL-22, y modulando la función e IL-23, implicadas en la génesis de la inflamación a nivel tisular. Existe evidencia de que la diferenciación de células Th-17 en ausencia de IL-23, conduce a la producción de IL-10, por lo que estas células son poco inductoras de inflamación. Las células Th17 requieren de TGF- β para su diferenciación. Además, las células T producen grandes cantidades de TGF- β y pueden inducir a células CD4⁺ nativas para producir IL-17 y ser autoconvertidas en células Th17.³⁸ Por otro lado, los datos obtenidos del estudio de Gebhardt y cols

indican que el TGF- β_1 actúa como un potente inhibidor y modulador de los mastocitos, de tal forma que este estudio confirma lo que se ha referido en otros artículos, acerca de que el TGF- β_1 es una citocina antiinflamatoria que se expresa constitutivamente en el intestino.²⁰ Aún está por definirse el papel que juega la TGF- β en la patogénesis del SII.

CONCLUSIONES

1. Los pacientes pediátricos con SII incluidos en nuestro estudio presentan un perfil pro-inflamatorio al mostrar niveles de citocinas plasmáticas pro-inflamatorias (IL-12 y TGF-b) y bajos niveles de citocina antiinflamatoria (IL-10) al compararlos con controles sanos.
2. Aun esta por dilucidar el rol de TGF-b en los pacientes pediátricos con SII.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, et al. Childhood Functional Gastrointestinal Disorders : Child/Adolescent. *Gastroenterology* 2006;130:1527-37.
2. Drossman D, Camilleri M, Mayer E, et al. AGA technical review on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002;123:2108.
3. Talley NJ, Spiller RC. Irritable bowel syndrome: a little understood organic bowel disease? *Lancet* 2002;360:555.
4. Talley NJ. Irritable bowel disease. En *Gastrointestinal and Liver Disease*. 8a ed. Sunder Elsevier, Canada, 2002. 2633-52
5. Fioramonti J, Bueno L. Centrally acting agents and visceral sensitivity. *Gut* 2002;51:i91-5.
6. Quigley EMM. New perspectives in irritable bowel disease. *US Gastroenterology Review*.

7. Kellow JE, Phillips SF, Miller LJ, et al. Dysmotility of the small intestine in irritable bowel syndrome. *Gut* 1988;29:1236
8. Dinan TG, Quigley EM, Ahmed SM, et al. Hypothalamic-pituitary-gut axis dysregulation in irritable bowel syndrome: plasma cytokines as a potential biomarker? *Gastroenterology* 2006;130(2):304-11.
9. O'Sullivan MA, Mahmud N, Kelleher DP, et al. Patient knowledge and educational needs in irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;12:39-43.
10. Bauer O, Razine E. Mast Cell-Nerve Interactions. *News Physiol Sci* 2000;15:213-218.
11. Dong WZ, Zou DW, Liz S, et al. Study of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Chin J Dig Dis* 2004;5:103-109.
12. Delvaux M: role of visceral hypersensitivity in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Gut* 2002;51(Suppl1):67.
13. Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology* 1994;106:533-539.
14. Spiller RC, Jenkins D, Thornles JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000;47:804-11.
15. Chadwick VS, Chen W, Shu D, et al. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002;122:1778-83.
16. Saavedra Y, Vergara P. Hypersensitivity to ovoalbumin induces chronic intestinal dysmotility and increases the number of intestinal mast cells. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:112-122
17. Gwee KA, Collins SM, Read NW, et al. Increased rectal mucosal expression of interleukin 1 α in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2003;52:523-526.
18. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993;328:106-13.

19. Akiho H, Deng Y, Blennerhassett P, et al. Mechanism underlying the maintenance of muscle hypercontractility in a model of postinfective gut dysfunction. *Gastroenterology* 2005;129:131-141
20. Gebhardt T, Lorentz A, Detmer F, et al. Growth, phenotype and function of human intestinal mast cells are tightly regulated by transforming growth factor beta1. *Gut* 2005;54(7):928-34
21. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 2005;128:541-551.
22. de Waal MR, Abrams J, Bennett B, et al. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: An autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991;174:1209-20.
23. Turner Dm, Williams DM, Sankaran D, et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1-8.
24. Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, et al. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003;52:91-93
25. van der Veek P, van den Berg M, de Kroon Y, et al. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2510-6.
26. Rojas-Espinosa. *Inmunología de memoria*. 3ª ed. Panamericana. México: 2006:151-152
27. Schmulson M, Ortiz O, Santiago-Lomeli M, et al. Frequency of functional bowel disorders among healthy volunteers in Mexico City. *Dig Dis*. 2006; 24; 342-347.
28. Sandler RS. Epidemiology of irritable bowel syndrome in the United States. *Gastroenterology* 1990; 99: 409-415.
29. Jones R, Lydeard S. Irritable bowel syndrome in the general population. *BMJ* 1992; 304: 87-90.

30. Zhou H, Li D, Cheng G, Fan J, Lu H. An epidemiologic study of irritable bowel syndrome in adolescents and children in South China: a school-based study. *Child: care, health and development*. 2010; 36(6): 781–786.
31. Dong L, Dingguo L, Xiaoxing X, Hanming L. An Epidemiologic Study of Irritable Bowel Syndrome in Adolescents and Children in China: A School-Based Study. *Pediatrics*. 2005;116; e393-e396.
32. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional Bowel Disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-91.
33. Schmulson M, Vargas JA, López-Colombo A, Remes-Troche JM, López-Alvarenga JC. Prevalencia y caracterización de los subtipos de SII según los criterios de Roma III, en un estudio clínico, multicéntrico. Reporte del grupo Mexicano de estudio para el Síndrome de Intestino Irritable. *Revista de Gastroenterología de México*. 2010; 75(4):
34. López-Colombo A, Bravo-González D, Corona-López A, et al. First community-based study of functional gastrointestinal disorders (FGID) in Mexico using the Modular Rome II Questionnaire. *Gastroenterology* 2006; 130(Suppl. 2): A508.
35. Valerio-Ureña J, Vásquez-Fernández F, Jiménez-Pineda A, et al. Prevalence of irritable bowel syndrome in Veracruz City, Mexico: A community-based survey. *Rev Gastroenterol Mex*. 2010; 75: 36-41.
36. Hotoleanu C, Popp R, Pavel TA, et al. Genetic determination of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14(43): 6636-6640.
37. Ford AC, Talley NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: a systematic review. *J Gastroenterol* 2011; 46: 421-431.
38. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756-1767.
39. Scully P, McKernan D, Keohane J, et al. Plasma cytokine profiles in females with irritable bowel syndrome and extra-intestinal co-morbidity. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2235-2243.
40. Hua MCh, Lai MW, Kuo ML, et al. *JPGN* 2011; 52(4): 376-381.



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DR. MARQUEZ NO. 162 C.P. 06720 MÉXICO D.F.
INSTITUTO NACIONAL DE SERVICIO MEDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
AFILIADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Investigadores: **Rodrigo Vázquez F¹, Alejandra Consuelo S¹, Norma Velázquez G², Gabriela Gutiérrez³.**
Departamento: ¹Gastroenterología y Nutrición HIMFG, ²Laboratorio de bacteriología intestinal HIMFG,
³Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad, UME, UNAM.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F., _____ de 200_____.

A quien corresponda:

Yo _____
declaro libre y voluntariamente que acepto participar con mi hijo(a)
_____ en el estudio "**PERFIL DE
CITOCINAS PROINFLAMATORIAS Y ANTIINFLAMATORIAS EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS CON SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE**" realizado en esta
Institución, cuyo objetivo es *identificar si estas proteínas (citocinas) se encuentran en
cantidades diferentes en los niños que presentan síndrome de intestino irritable en
comparación con niños (as) sanos (as).*

Después *de una evaluación clínica completa se me ha explicado que mi niño (a) es
candidato (a) a participar en este estudio en el grupo de niños*
_____ y mi participación consistirá en *la toma de una muestra de
sangre mediante una venopunción que equivale más o menos a una cucharadita.*

Entiendo que del presente estudio se derivarán resultados que serán publicados con el
objetivo de *poder desarrollar en un futuro estrategias de tratamiento del síndrome de
intestino irritable en los pacientes pediátricos y sin ningún riesgo de tipo médico
debido a la participación de mi hijo(a) en este estudio ni la divulgación de
información personal de mi hijo(a).*

Es de mi conocimiento que somos libres de retirarnos del estudio en el momento en que
yo así lo desee y que la atención a mi hijo/a en esta Institución NO se verá afectada.
También podré solicitar, en cualquier momento, información adicional acerca de los
riesgos y beneficios de nuestra participación en este estudio dirigiéndome a la **doctora
Alejandra Consuelo Sánchez, teléfono 5228 9917 ext. 1289 o con el doctor Rodrigo
Vázquez Frías al teléfono 044 551849 9424.**

Así mismo se me dará una copia de este documento.

Nombre del paciente: _____

Registro hospitalario: _____ No. Caso en el estudio: _____

Nombre de la madre, padre o tutor: _____

Parentesco: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 1

Nombre con letra de molde: _____

Parentesco: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 2

Nombre con letra de molde: _____

Parentesco: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Dra. Alejandra Consuelo Sánchez _____
Investigador Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez #162. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México
DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 1289

Dr. Rodrigo Vázquez Frias _____
Investigador Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México
DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 1024



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DR. MARQUEZ NO. 162 C.P. 06720 MÉXICO D.F.
INSTITUTO NACIONAL DE SERVICIO MEDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
AFILIADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Investigadores: **Rodrigo Vázquez F¹, Alejandra Consuelo S¹, Norma Velázquez G², Gabriela Gutiérrez³.**
Departamento: ¹Gastroenterología y Nutrición HIMFG, ²Laboratorio de bacteriología intestinal HIMFG,
³Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad, UME, UNAM.

CARTA DE ASENTIMIENTO para Participar en un Estudio de Investigación.

PERFIL DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS Y ANTIINFLAMATORIAS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE

Estamos realizando un estudio de investigación en niños y adolescentes con síndrome de intestino irritable. Los estudios de investigación nos permiten aprender más acerca de ciertos problemas de salud, como el síndrome de intestino irritable, que presentan algunos niños y adolescentes. Te estamos invitando a participar en este estudio, en el cual evaluaremos la cantidad de unas sustancias en la sangre que se llaman citocinas y que participan en la inflamación del intestino, en niños y adolescentes con síndrome de intestino irritable y que se encuentran en diferente cantidad en los niños sin este trastorno.

Si decides participar en el estudio, serás revisado por un médico, para que contestes algunas preguntas acerca de si tienes algunas enfermedades o molestias, así como evaluar si tienes problemas en tus evacuaciones (heces, popó) o dolor abdominal (panza). Uno de los investigadores te realizará un examen físico y te medirá tu peso y estatura. Si eres elegido para el grupo de estudio se te citará para hacerte unos exámenes de pipí y popó antes de tu próxima consulta, si eres elegido para grupo control no se te realizarán estos estudios.

En la siguiente consulta deberás asistir a la sala de manometría del servicio de Gastroenterología y Nutrición, ubicada en el tercer piso del edificio de hospitalización del Hospital Infantil de México Federico Gómez para que se revisen tus estudios (cuando así aplique) y en caso de que no tengas ningún problema en los estudios, se te tome una muestra de sangre, para lo cual tendrás que venir en ayuno, es decir sin haber desayunado.

El riesgo de este estudio es el de que te puede doler la punción al momento de la toma de muestra de sangre y te puede quedar un moretón.

Este estudio nos proporcionará más conocimientos acerca del síndrome de intestino irritable, que compartiremos con otros médicos y poder ayudar a otros niños o adolescentes que tienen síndrome de intestino irritable.

Cuando hayamos terminado el estudio escribiremos un reporte sobre los resultados. En este reporte no aparecerá tu nombre y nadie sabrá que participaste en el estudio. Puedes

preguntar todas las dudas que tengas en cualquier momento y eres libre de participar o no según sea tu deseo. Nosotros seguiremos dándote la atención con mucho gusto.

Si decides participar en el estudio escribe tu nombre y firma y te daremos una copia de este papel.

Estoy de acuerdo en participar Sí _____ No _____

Participare en el grupo (estudio o control): _____

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 1

Nombre con letra de molde: _____

Parentesco: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 2

Nombre con letra de molde: _____

Parentesco: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Dra. Alejandra Consuelo Sánchez _____
Investigador Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez #162. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México
DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 1289

Dr. Rodrigo Vázquez Frias _____
Investigador Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México
DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 1024

DETERMINACIÓN DE CITOCINAS EN PLASMA

Obtención de la muestra

De cada uno de los pacientes, así como de los controles se obtuvo por punción venosa, 5 ml de sangre total en tubos con el anticoagulante EDTA. Los tubos se centrifugaron a 400xg durante 20min para obtener el plasma. Del plasma obtenido se realizaron alícuotas en microtubos con una capacidad de 500 μ l, las muestras se almacenaron a -70°C hasta la realización del ensayo.

Determinación de citocinas por el método de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).

Las citocinas TNF α , IL-12, IL-10, and TGF β , se cuantificaron utilizando el kit de ELISA (ASSAY DESINGS TiterZyme®EIA), siguiendo las instrucciones del proveedor. La densidad óptica fue medida a 450nm en un lector para placas de ELISA *Multiskan FC* de la marca Thermo Scientific. Los valores obtenidos se correlacionaron linealmente con las concentraciones de los estándares, realizando la curva de calibración para cada citocina. Las muestras se corrieron por duplicado. La sensibilidad del kit para la citocinas es el siguiente; para TNF α : 8.43pg/ml, IL-10: 3.75pg/ml, IL-12: 32pg/ml y TGF β : 10.8 pg/ml.

**PERFIL DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS Y ANTIINFLAMATORIAS EN
PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE**

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nombre del niño(a): _____

Registro hospitalario: _____ No. Caso en el estudio: _____

Teléfono: _____ Domicilio: _____

Edad: _____ m Sexo: (M) (F) Peso: _____ kg Talla: _____ cm P/T: _____ % T/E: _____ %

Sintomatología

¿Presenta sensación de molestia o dolor abdominal que se presente por lo menos una vez a la semana en los dos meses previos al diagnóstico?

(SI) (NO)

¿Está asociado a alguna de las siguientes características en al menos una de cuatro veces?

- mejora con la defecación; (SI) (NO)
- Inicio asociado con cambios en la frecuencia de las evacuaciones; (SI) (NO)
- Inicio asociado con cambio en la forma (aparición) de las evacuaciones. (SI) (NO)

Síntoma predominante:

Diarrea: Constipación: Mixto:

¿Existe evidencia de un proceso inflamatorio, anatómico, metabólico o neoplásico que explique la sintomatología del paciente?

(NO) (SI) -----> **Descartar**

¿El niño(a) presenta Síndrome de Intestino Irritable?

(NO) (SI)

¿El niño(a) presenta algún proceso infeccioso gastrointestinal o en cualquier otro nivel al momento de la toma de la muestra sanguínea?

(NO) (SI) -----> **Descartar**

Estudios de coproparasitoscópicos positivos: (NO) (SI) -----> **Descartar**

Estudio de Giardiasis positivo: (NO) (SI) -----> **Descartar**

El sujeto es elegible como:

Evaluó: _____ Supervisó: _____