

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL

U.M.A.E. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES C.M.N Siglo XXI

SERVICIO DE CIRUGIA DE COLON Y RECTO

UIM EN DERMATOLOGIA Y MICOLOGIA

TITULO:

**ASOCIACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES SERICAS DE MOLECULAS
PROINFLAMATORIAS Y EL GRADO DE ACTIVIDAD EN PACIENTES CON
COLITIS ULCEROSA CRONICA INESPECIFICA**

TESIS QUE PRESENTA:

DR. CARLOS EDUARDO SAMANIEGO CHAVEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA

DE LA ESPECIALIDAD EN:

COLOPROCTOLOGIA

ASESORES:

DR JOSE LUIS ROCHA RAMIREZ

M.C. RAFAEL MONDRAGON GONZALEZ



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.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa Sofía, a quien amo profundamente y durante 6 años ha caminado a mi lado hombro con hombro y con un gran sacrificio personal el complicado sendero que en ocasiones la residencia y la profesión nos traza, convirtiéndose en el bastión más importante de mi desarrollo profesional y personal.

A mis padres, Carlos y Argelia, de quienes me siento orgulloso, y que nunca han claudicado en su afán por convertirme en un hombre de bien, enseñándome el valor del trabajo y la perseverancia, ofreciéndonos, a mi y a Sofía, su apoyo y cariño incondicionales.

A mis hermanos Alejandra y Roberto, que siempre han depositado su confianza en mi, como profesional y como persona.

Al Dr. José Luis Rocha Ramírez, por depositar en mí, de forma desinteresada conocimiento, confianza y amistad y de quien admiro su profesionalismo y humanismo.

A mis profesores, el Dr. Walter Parrado Montaña y Moisés Rojas Illanes, grandes profesionales, quienes no se rindieron es su afán de moldear y pulir cada uno de mis pasos.

Al M en C. Rafael Mondragón González por el gran interés y entusiasmo que mostró en este proyecto así como el tiempo que dedicó a su elaboración de esta tesis. Agradezco a la Dra. Rita Gómez Díaz, al Dr. Miguel Cruz López y al Dr. Adolfo Chávez Negrete, su colaboración desinteresada para enriquecer esta tesis con su conocimiento.

A mis compañeros de la Residencia quienes hicieron de estos dos años una invaluable experiencia de vida.

INDICE

PORTADA

AGRADECIMIENTOS

INDICE

RESUMEN

ANTECEDENTES

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

OBJETIVOS

HIPOTESIS

JUSTIFICACION

MATERIAL Y METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

ANEXO I: HOJA DE CAPTACION

ANEXO II: CONSENTIMIENTO INFORMADO

BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

Introducción: El CUCI, es una enfermedad inflamatoria colorectal, etiología desconocida, producida por respuesta inmuno-inflamatoria mediada por neutrófilos, linfocitos, citocinas y moléculas de adhesión celular. No existen estudios que evalúen la relación entre concentración de citocinas y actividad de la enfermedad, lo cual podría tener valor predictivo para el seguimiento de pacientes.

Objetivo: Establecer la probable asociación entre citocinas proinflamatorias, antiinflamatorias y moléculas de adhesión celular con la expresión clínica del CUCI.

Material y métodos: Estudio prospectivo, descriptivo, transversal, de Mayo a Diciembre del 2008 incluyendo pacientes con CUCI del Servicio de Colon y Recto del Centro Médico Nacional Siglo XXI, excluyendo aquellos tratados con esteroides o inmunomoduladores. Estudiamos estado clínico (Truelove y Witts) y concentración de citocinas: IL-1 β , IL-6, TNF- α , ICAM-1, VCAM-1, E-selectina, IL-10, IFN- γ y resistina. Análisis estadístico mediante ANOVA y prueba de Tukey.

Resultados: 58 pacientes, 23 sin actividad, 24 actividad leve, 8 actividad moderada y 3 actividad severa. IL-1 β , TNF- α , ICAM-1 y resistina mostraron correlación con actividad clínica ($p < 0.0001$) igual que VCAM-1 ($p < 0.031$). IL-6 y E-selectina no evidenciaron diferencia respecto a la actividad clínica ($p = 0.232$ y 0.113). IL-10 no se detectó en actividad severa, con mayores concentraciones en pacientes sin actividad ($p < 0.001$).

Conclusiones: La elevación de IL-1 β , resistina, TNF- α , ICAM-1 y VCAM-1 se asocia a la actividad clínica del CUCI. IL-10 es mayor en pacientes con remisión y correlaciona con la extensión colorectal, elevándose en proctitis y disminuyendo en pancolitis. IFN- γ , IL-6 y e-selectina no se modifican con la actividad clínica.

ANTECEDENTES

La colitis ulcerosa crónica inespecífica (CUCI), es una enfermedad inflamatoria de etiología desconocida, producida por una respuesta inmune e inflamatoria descontrolada ⁽¹⁾; en un paciente genéticamente susceptible, caracterizada por inflamación difusa de la mucosa rectocolónica y se extiende proximalmente a lo largo de una extensión variable del colon ⁽²⁾.

La función clásica del epitelio intestinal es la absorción y excreción de fluidos, electrolitos y nutrientes. Sin embargo, la integridad del epitelio intestinal (CEI) es la primera barrera fisiológica de defensa contra microorganismos patógenos y a una gran cantidad de antígenos en el lumen intestinal ^(3, 4).

La colitis ulcerosa es probablemente una enfermedad autoinmune iniciada por la respuesta alterada de la mucosa colónica, determinada genéticamente, a una bacteria ⁽²⁾. El daño de la barrera epitelial es seguido de invasión bacteriana e inflamación de la mucosa ^(3,4).

Aun no está totalmente entendida la etiopatogenia del CUCI ni de la Enfermedad de Crohn (EC), los criterios diagnósticos para estas condiciones han sido implementados por consenso y dogma por muchos años. Hay pocos argumentos que comprueben que son enfermedades diferentes en término de su genética, predisposición ambiental y respuesta al tratamiento ⁽⁵⁾.

Del 10 al 20% de los pacientes con CUCI, tienen al menos un miembro de la familia con enfermedad inflamatoria intestinal. El diagnóstico se realiza mediante una combinación de historia clínica, colonoscopia e histología ⁽²⁾.

En los Estados Unidos hay aproximadamente 250 mil a 500 mil personas con diagnóstico de CUCI, con una incidencia de 2:100000 y 11:100000 personas por año. La enfermedad tiene un impacto significativo en el uso de los recursos de

salud, con un número de visitas domiciliarias que llega a 250000 y 20000 hospitalizaciones, con un costo de las mismas de 500 millones de dólares por año. En estas estimaciones no se incluyen los costos sociales aunados a las incapacidades que la enfermedad produce (6).

En México no se cuentan con datos fidedignos de la incidencia de CUCI, algunas publicaciones anecdóticas y regionalizadas de algunas instituciones muy específicas reportan cifras variables. La prevalencia en admisiones hospitalarias se ha descrito de 2.6 casos por cada 1,000 admisiones hospitalarias y de 74 casos por cada 1,000 pacientes atendidos en un servicio de Gastroenterología (7).

Los síntomas cardinales son: ulceración de la mucosa, hemorragia rectal, diarrea y dolor abdominal (8). El dolor abdominal bajo tipo cólico puede estar presente y el severo está limitado a la colitis severa. Las principales manifestaciones extra intestinales son: (2)

Relacionadas con la actividad de la colitis:

- Eritema nodoso (2-4% de los casos)
- Ulceras aftosas (10%)
- Epiescleritis
- Artropatía aguda (5-10%)

Usualmente relacionadas con la actividad de la colitis:

- Pioderma gangrenoso (1-2%)
- Uveítis arteriovenosas

No relacionados con la actividad de la colitis

- Sacroileitis (12-15%)

- Espondilitis anquilosante (1-2%)
- Colangitis esclerosante (3%)

Ha sido difícil establecer un método que evalúe la actividad clínica de la enfermedad. Truelove y Witts propusieron una serie de parámetros que se han utilizado para determinar la severidad de la CUCI (8), los cuales se muestran en la tabla I.

TABLA I.

	Leve	Moderada	Severa
Núm. Evacuaciones	<4	4 a 6	> a 6
Pulso	< 90	90 a 100	>100
Hematocrito	>40	30 a 40	< 30
Perdida de peso	Ninguna	1 a 10	>10
Temperatura	Normal	< 38	> 38
VSG	Normal	20 a 30	> 30

Tomado: Takeshi T (9).

El objetivo del tratamiento de la CUCI es inducir y mantener una adecuada remisión clínica, lograda mediante una efectiva y prolongada supresión de la respuesta inflamatoria. En algunos casos con tratamiento exitoso, la inflamación subclínica de la pared intestinal puede persistir y contribuir de manera importante al riesgo de recaída (10).

La valoración de la enfermedad inflamatoria intestinal representa un gran reto. Actualmente el método más adecuado es la endoscopia con toma de biopsia lo cual es muy invasivo. Los métodos de laboratorio más utilizados son la proteína C reactiva y la velocidad de sedimentación globular, los cuales no son lo suficientemente específicos ni sensibles (10).

El manejo farmacológico de la colitis ulcerosa ha recaído en los 5-amino salicilatos, corticoesteroides e inmunosupresores incluyendo anti metabolitos de las purinas y Ciclosporina ⁽⁸⁾. La terapia biológica incluye: 1) Compuestos biológicos modificados, 2) Proteínas o péptidos recombinantes, 3) anticuerpos monoclonales y proteínas de fusión, 4) Oligonucleótidos anti sensibilizados para ácidos nucleicos. Estudios clínicos han demostrado que la inhibición de citocinas como el factor de necrosis tumoral- α y la inhibición selectiva de moléculas de adhesión como α -4 integrinas y α -4- β -7 integrinas son efectivas en el tratamiento de varias formas de enfermedad inflamatoria intestinal como CUCI y EC ⁽¹¹⁾.

La probabilidad de colectomía en los primeros 5 años posteriores al diagnóstico es mínima en pacientes con colitis distal y 35 % en pacientes con pancolitis, la causa más frecuente es la refractariedad al tratamiento médico. El riesgo acumulado de enfermedad inflamatoria intestinal recurrente postoperatoria en forma de Pouchitis es de 15.5% un año posterior al procedimiento y de 45.5 % a los 10 años. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es la citocina pro inflamatoria clave en pacientes con EC, sin embargo, puede incrementarse en la sangre de pacientes con colitis ulcerosa, el rol del TNF- α en la patogénesis de la colitis ulcerosa aun esta en discusión ⁽¹²⁾.

Aunque los mecanismos precisos y el proceso patogénico de la EC y CUCI no están completamente dilucidados, evidencias recientes sugieren que estos desórdenes son mediados por activación de respuesta inmune y que el proceso inflamatorio es influenciado por factores ambientales así como factores genéticos del huésped ⁽¹³⁾.

Se han incrementado los estudios sobre el rol que los factores genéticos juegan en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal; los factores ambientales han fallado en explicar los mecanismos de susceptibilidad y progresión de la enfermedad. Algunos genes que codifican citocinas constituyen

importantes candidatos que expliquen la susceptibilidad a dichos padecimientos (14).

El daño a las células epiteliales y la infiltración de neutrófilos es preponderante en la colitis ulcerativa. Los neutrófilos son potentes células citotóxicas que dañan los tejidos en la defensa contra una bacteria, por lo cual se le cree responsable del proceso destructivo y los síntomas presentados en la enfermedad inflamatoria intestinal. Los neutrófilos pueden liberar radicales libres de oxígeno, y una gran variedad de proteínas solubles como la calprotectina. La acumulación y activación de neutrófilos en la lámina propia puede estar relacionada con citocinas inflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α (15).

Las citocinas han sido implicadas en la patogénesis de muchas enfermedades crónicas inflamatorias donde los factores genéticos han mostrado un papel determinante en la susceptibilidad a la enfermedad así como en su severidad (16,17). Las citocinas son potentes polipéptidos y glicopéptidos que actúan como mediadores de infecciones y en reacciones inflamatorias (18).

Muchas de las enfermedades crónicas inflamatorias como la enfermedad inflamatoria intestinal y de estas la colitis ulcerosa se caracteriza por la activación de macrófagos y linfocitos que dan como resultado incremento en la producción de citocinas inflamatorias donde la acción anti-inflamatoria es provista por la IL-4 e IL-10, esta última ausente en pacientes con enfermedad activa (19).

Muchos mediadores bioquímicos incluyendo citocinas, intermediarios del ácido araquidónico, radicales libres, factores de crecimiento, han sido estudiados para dilucidar su papel en el desarrollo de la inflamación intestinal persistente (20, 4). Algunos de estos mediadores inductores de apoptosis en células epiteliales de las criptas que influyen en la inflamación de la mucosa colónica son el TNF- α y el óxido nítrico (NO $_3^{-2}$) así como algunas interleucinas tales como IL1- β , IL-6 y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos TGF- β (21). Se ha estudiado el

papel de la IL-1 β , la IL-6, IFN- γ y TNF- α como mediadores proinflamatorios, ya que se sabe que están implicados en alteraciones morfológicas y funcionales de la mucosa intestinal observada en la enfermedad inflamatoria intestinal, produciendo eventos como inflamación con atrofia de las vellosidades, hiperplasia de criptas y sangrado de mucosas. Sin embargo algunos estudios señalan que los principales mediadores de esta inflamación en la patogénesis de la Colitis ulcerosa son la IL-1 β , IL-6 y el TNF- α , ya que no se ha demostrado un papel preponderante del IFN- γ en la fisiopatogenia de esta enfermedad. (22, 17)

La IL-17 también es un potente mediador de la respuesta inflamatoria en varios tejidos, es secretada por linfocitos T CD8⁺ citotóxicos así como macrófagos y potencia la respuesta inflamatoria de IL6, IL1- β y TNF- α . La expresión de IL-17 no ha sido detectada en sangre de pacientes con mucosa colónica normal, colitis infecciosa, o colitis isquémica. Pero los niveles de IL-17 fueron significativamente elevados en pacientes con Colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn (23).

Algunos estudios evidencian que la IL-16 esta sobre expresada en la mucosa colónica y contribuye al proceso inflamatorio, reclutando linfocitos T CD4⁺ e incrementando la expresión de citocinas inflamatorias como la IL-1 β e IL- 6 (25).

La familia de la IL-1 ha sido de gran interés en las enfermedades inflamatorias intestinales, ya que la IL-1 α e IL-1 β son las principales citocinas involucradas en la cascada de la inflamación y solo son inhibidas por su receptor soluble la IL-1RA. Las tres proteínas son codificadas por genes localizados en el brazo largo del cromosoma 2 (16,17). IL-1 parece jugar un papel primordial en la patogénesis de ciertos desórdenes inflamatorios incluyendo la colitis ulcerosa, donde la producción local de IL-1 β y su receptor agonista IL-1RA, han sido correlacionadas con la actividad de la enfermedad (18).

La IL-6, es una potente citocina proinflamatoria y tiene diversos efectos biológicos incluidos la diferenciación y maduración de linfocitos B, activación y

diferenciación de células T y la inducción de reactantes de fase aguda en los hepatocitos (20, 4). Tiene un papel central en la regulación de las reacciones inflamatorias e incluso se ha asociado con alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos. Recientemente se ha descrito la cinética de la aparición de la IL-6 en la sangre y los tejidos en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal y sugiriendo su relación con la fisiopatología de la enfermedad (25).

La IL-8, un péptido secretado principalmente por los macrófagos y células endoteliales, es un potente quimiotáctico y activador de neutrófilos (4,20). Los granulocitos migran a la mucosa en la colitis. Este movimiento es promovido por varias citocinas quimiotácticas y por la IL-8. (26).

La sinergia entre IL-1 β e IL-6 contribuye en la patogénesis de la colitis ulcerativa crónica inespecífica y sus concentraciones séricas se encuentran incrementadas en dicho padecimiento. Sin embargo se postula que los niveles séricos puedan ser empleados como factores pronósticos de severidad y que puedan predecir la remisión y complicaciones a largo plazo en pacientes con CUCI (27,17).

Los niveles elevados de citocinas inflamatorias como TNF- α , IL1- β , IL 6 e IL 8 han sido recientemente reportados en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Se cree que niveles tisulares de estas citocinas inflamatorias correlacionan con la actividad de la enfermedad y son detectables en pacientes con colitis ulcerosa inactiva. Aunque algunos autores creen que la IL-6 se eleva en pacientes con enfermedad de Crohn, no así en pacientes con CUCI, otras investigaciones señalan que se expresa en ambas enfermedades y juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad (20, 4).

Por otro lado, las moléculas de adhesión celular, son esenciales para la captura y migración de leucocitos, algunas de ellas tales como la E-selectina e

ICAM-1 se encuentran en concentraciones elevadas y solubles en el suero de pacientes con colitis ulcerosa comparadas con individuos sanos (28,29).

Recientemente una nueva potente citocina proinflamatoria denominada Resistina secretada por los adipocitos que en un principio se relacionó con la obesidad, el síndrome metabólico, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2, se ha detectado en sueros de modelos murinos y en pacientes con asma, sin embargo, también se ha demostrado que dicha citocina se expresa en linfocitos que se encuentran cerca de lesiones con alto grado de inflamación del intestino y que posiblemente tenga un papel regulador en dicho proceso inflamatorio y la evolución de la lesión (30), aún no existen estudios que la relacionen con el grado de actividad de la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica en humanos.

En base a estos antecedentes, este estudio pretende contribuir al entendimiento del mecanismo inmune humoral que participa en el proceso inflamatorio de la colitis ulcerosa crónica inespecífica. El conocimiento de la gravedad y extensión de la enfermedad, así como nuevos auxiliares diagnósticos que nos orienten a valorar estos parámetros de manera objetiva, son básicos para establecer una estrategia general de tratamiento en pacientes con colitis ulcerosa crónica inespecífica (9).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la relación que existe entre los niveles de citocinas y moléculas de adhesión con el grado de actividad clínica de los pacientes con colitis ulcerosa crónica inespecífica?

OBJETIVO GENERAL

Establecer la probable asociación entre las citocinas proinflamatorias, antiinflamatorias y moléculas de adhesión celular con la expresión clínica de la colitis ulcerosa.

HIPOTESIS

Es probable que el nivel de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión celular se incrementen de forma proporcional a la actividad clínica de la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica

JUSTIFICACION

Los niveles elevados de citocinas inflamatorias como TNF- α , IL1- β , IL 6 así como moléculas de adhesión celular como resistina, E-selectina, ICAM-1, VCAM-1, han sido recientemente reportados en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Es muy probable que los niveles séricos de estas se correlacionen con el desarrollo de la enfermedad y sean detectables en pacientes con colitis ulcerosa inactiva, sin embargo no existen estudios que evalúen la relación que existe entre concentración de estas citocinas y su posible relación con la actividad de la enfermedad, lo que nos ayudaría a tener un valor predictivo para el seguimiento de estos pacientes y su respuesta al manejo médico.

MATERIAL Y METODOS

1.- Fecha de inicio y conclusión. 1 de Mayo al 31 de Diciembre del 2008

2.- Ámbito: Servicio de Cirugía de Colon y Recto del Hospital de especialidades del Centro Médico Nacional Bernardo Sepúlveda.

3.- Tipo de estudio: Estudio transversal analítico.

4.- Población objetivo: Pacientes con colitis ulcerosa crónica inespecífica que acudan a control en la consulta externa o al servicio de admisión continúa con cualquier actividad clínica de este padecimiento.

Unidad de observación: Pacientes que acudieron durante el periodo de estudio a los servicios de Cirugía de Colon y Recto y admisión continua con diagnóstico de Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica.

5.- Material biológico: 58 pacientes

6.- Criterios de inclusión:

- Ambos géneros.
- Menores de 18 años de edad y mayores de 70 años de edad.
- Manejados con diagnóstico de Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica.

Criterios de no inclusión:

- Pacientes que acudan a admisión continúa por padecimiento no relacionado con la colitis ulcerosa crónica inespecífica.
- Pacientes sin diagnóstico histopatológico de Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica

Criterios de exclusión:

- Pacientes tratados con esteroides sistémicos o inmunomoduladores en los últimos tres meses.

- Pacientes con cualquier tipo de enfermedad autoinmune.

7.- Variables:

- Edad

- Género

- Estado clínico de la enfermedad (Clasificación de Truelove y Witts)

- Valores de cuantificación de citocinas: IL-1 β , IL-6, TNF- α , ICAM-1, VCAM-1, E-selectina, IL-10, IFN- γ y resistina

- Manifestaciones extra intestinales

8.- Metodología

Se realizará una hoja de captación de datos, incluyendo las variables descritas anteriormente, y se aplicará a todos los pacientes que acudan a la consulta externa para control por Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica y aquellos que sean valorados en admisión continua por exacerbación de la misma enfermedad.

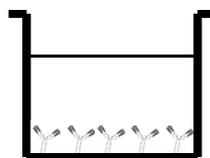
Detección y cuantificación por medio de la técnica de ELISA

El método para la Determinación y cuantificación de citocinas y moléculas de adhesión celular mediante la técnica de ELISA, se realizará de la siguiente manera:

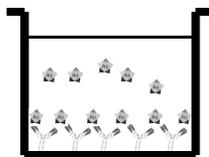
Se tomarán 5ml de sangre periférica de antebrazo, en un tubo de 7 ml Vacutainer-EDTA® , la cual será enviada a la Unidad de Investigación en Dermatología y Micología y se obtendrá el plasma por centrifugación. Se almacenará dicho plasma a -70° C en criotubos cónicos con tapón de rosca en donde se cuantificarán las siguientes citocinas: TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, ICAM-1, VCAM-1, IFN- γ , E-selectina y Resistina, resultados que posteriormente se correlacionarán con la gravedad clínica del paciente en el momento de la toma de la muestra . El método de obtención de la concentración de citocinas se llevará a cabo de la siguiente manera.

- 1.- Agregar 100µl/pozo del anticuerpo de captura diluido 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 µl/pozo con PBS adicionado con suero fetal bovino descomplementado al 10% e incubar a temperatura ambiente durante una hora.
- 4.- Aspirar y lavar como en el paso 2.
- 5.- Adicionar 100 µl/pozo del estándar, controles y plasmas problema e incubar durante dos horas a temperatura ambiente.
- 6.- Aspirar y lavar como en el paso 2.
- 7.- Adicionar 100µl/pozo de anticuerpo de detección adicionado con el reactivo de avidita-peroxidasa. Sellar la placa e incubar a temperatura ambiente 1 hora.
- 8.- Aspirar y lavar 5 veces con PBS-Tween.
- 9.- Adicionar 100 µl/pozo de Tetrametilbencidina (TMB) e incubar a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos.
- 10.- Adicionar 25 µl/pozo de ácido sulfúrico 2N y leer a 450 nm.
- 11.- Determinar la concentración de citocinas y/o moléculas de adhesión con una regresión lineal obtenida del estándar

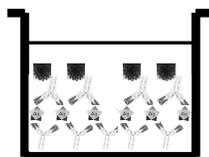
ELISA tipo sándwich para la detección de citocinas



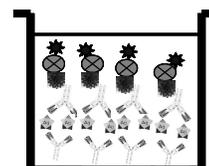
Pegado de anticuerpo monoclonal murino anti-interleucina en incubado 4°C toda la noche.



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



9.- Definición conceptual y operacional de variables

- Edad: Variable continúa
- Genero: Variable nominal
- Estado clínico de la enfermedad: Variable nominal
- Cuantificación de citocinas: Variable continua.
- Manifestaciones extra intestinales: Variable nominal.

Variables analizadas: categorizadas en la tabla II

Tabla II

Nombre de la variable	Tipo de Variable	Definición conceptual	Definición Operacional (medición)
Edad	Numérica	Tiempo transcurrido desde el nacimiento	Años
Género	Categórica	Diferencia física y constitutiva del hombre y la mujer	1= Hombre 2= Mujer
Criterios de Truelove y Witts	Categórica	Escala utilizada habitualmente para evaluar el grado de severidad de acuerdo a la expresión clínica de la enfermedad.	0: Sin actividad 1: Leve 2: Moderada 3: Severa
Citocinas	Numérica	Polipéptidos y glicopéptidos que actúan como mediadores de infecciones y reacciones inmunoinflamatorias	TNF- α ICAM-1 IL 1 β VCAM-1 IL 6 E-selectina IL-10 Resistina IFN- γ

Manifestación Extra intestinal	Categórica	Condición patológica asociada a la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica	-Eritema nodoso -Ulceras aftosas -Epiescleritis -Artropatía aguda -Pioderma -Uveítis -Sacroileitis -Espondilitis anquilosante -Colangitis esclerosante
-----------------------------------	------------	--	--

10.- Análisis estadístico:

Se realizó el cálculo del tamaño de muestra (S), de una población infinita, con la fórmula $S = Z * Z (P (1-P)) / (D * D)$ en donde D es la mitad del ancho de la muestra para el nivel de confianza deseado y Z es un percentil de la distribución normal estándar determinado por el nivel de confianza especificado (1.96 para un nivel de confianza de 95%).

Para obtener la muestra final, se ajustó S con un factor de corrección para población finita obteniendo lo siguiente: Tamaño de la muestra: $S / (1 + (S / población))$.

Con esto se obtienen los siguientes tamaños de muestra para los diferentes niveles de confianza, tomándose como muestra el nivel de confianza de 95% .

Población muestra: 100
Frecuencia esperada: 10.00 %
Error aceptado : 5.00 %

Nivel confianza	Tamaño de muestra
-----	-----
80 %	37
90 %	49
<u>95 %</u>	<u>58</u>
99 %	70
99.9 %	80
99.99 %	84

Se recopilarán los datos obtenidos en una tabla de cálculo del programa Excel para vaciarlos posteriormente al programa SPSS donde se analizará con ANOVA y la prueba de Tukey, para valorar la significancia estadística.

11.- Recursos financieros y humanos

HUMANOS: Cuerpo asistencial del servicio de Cirugía de Colon y Recto así como de la unidad de investigación médica en dermatología y micología del HE CMN SXXI. Médicos adscritos y residentes, así como apoyo del asesor de tesis

MATERIALES y EQUIPO: computadora, plásticos y reactivos químicos necesarios para realizar un inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA).

FINANCIEROS: Proporcionados por la unidad de investigación médica en dermatología y micología del HE CMN SXXI.

FÍSICOS: Las instalaciones del hospital será el área de captura de datos se requerirá un espacio para el análisis y el seguimiento de resultados así como el resto de trabajo de oficina.

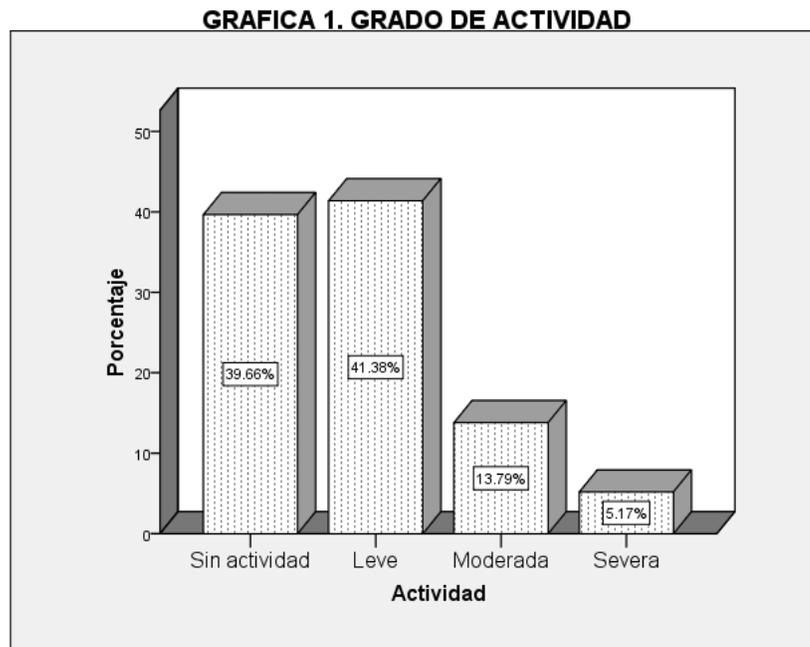
VII. ASPECTOS ETICOS

Se presentó carta de consentimiento informado y se recabaron firmas de los pacientes que aceptaron la realización de las pruebas, con estricto apego a las normas institucionales y del sector salud. El presente estudio no viola las disposiciones de Helsinki en materia de protocolos de investigación en seres humanos.

RESULTADOS

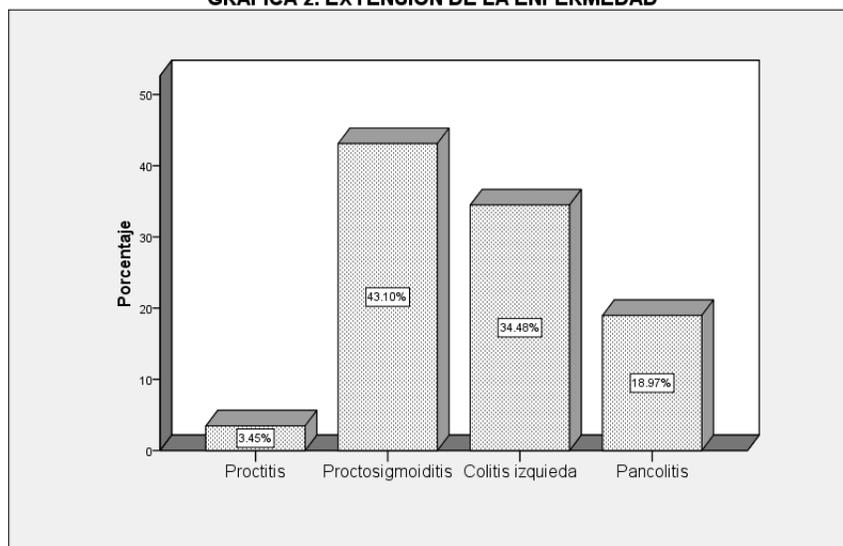
Se estudiaron un total de 58 pacientes con diagnóstico de Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica, tratados en el servicio de Cirugía de Colon y Recto, de julio a diciembre del 2008, de los cuales 29 corresponden al género masculino (50%), y 29 al femenino (50%) y el promedio de edad fue de 52.28 ± 13.96 años.

Fueron incluidos aquellos pacientes tratados únicamente con mesalazina, sin esteroides ni inmunomoduladores. Se dividieron en dos grupos: en remisión y con actividad clínica. Los pacientes con actividad clínica se estadificaron de acuerdo a los criterios de Truelove y Witts (9), para determinar el grado de severidad clínica, obteniendo los siguientes resultados: 23 pacientes (39.7%) sin actividad, 24 (41.4%) con actividad leve, 8 (13.8%) con actividad moderada y 3 (5.2%) con actividad severa. (Gráfica 1).



De acuerdo a la extensión rectocolónica de la enfermedad, se incluyeron 2 (3.4%) proctitis, 25 (43.1%) proctosigmoiditis, 20 (34.5%) colitis izquierda y 11 (19%) pancolitis. (Gráfica 2).

GRAFICA 2. EXTENSION DE LA ENFERMEDAD



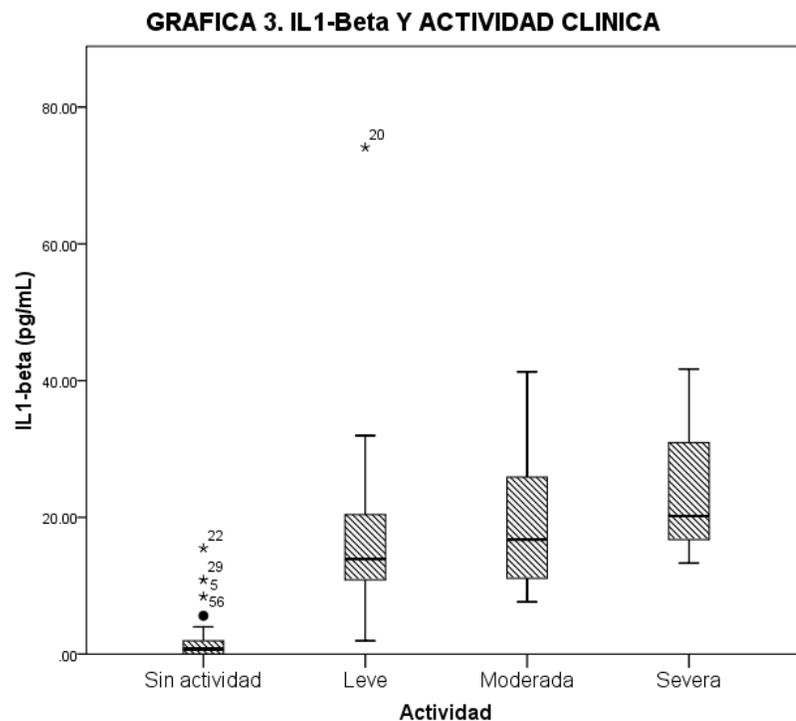
Se realizó un análisis de las concentraciones séricas de cada una de las citocinas utilizando ANOVA para evaluar las diferencias inter e intragrupal en relación al grado de severidad de la CUCI, los resultados se resumen en la tabla III. En las gráficas utilizadas para presentar nuestros resultados, las cajas muestran el promedio \pm DS y las líneas de error es el error estándar de las concentraciones (pg/ml).

Tabla III

Concentración de citocinas detectadas por ELISA

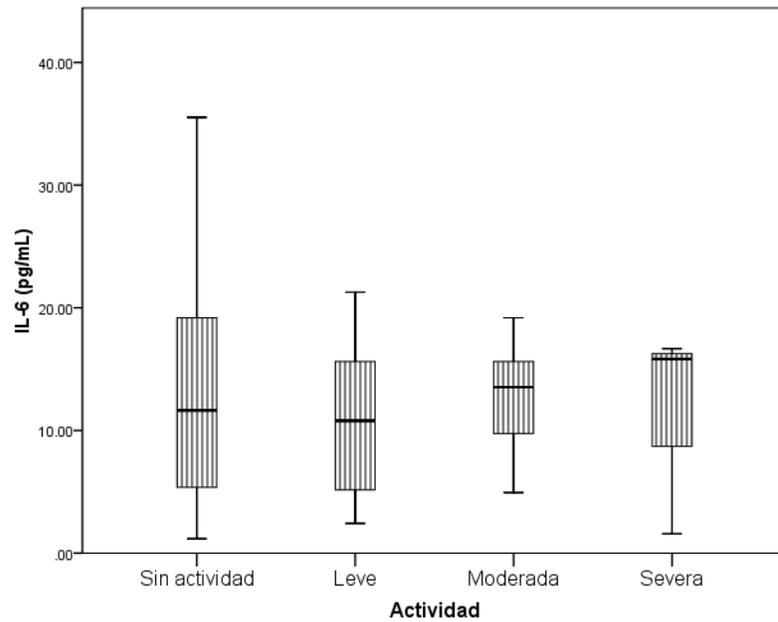
Citocina (pg/mL)	Promedio \pm DE	Sin actividad	Leve	Moderada	Severa	P
IL-1β	11.96 \pm 13.16	2.32	17.02	19.54	25.05	0.0001
IL-6	12.28 \pm 7.55	13.75	10.83	12.73	11.36	0.232
IL-10	249.09 \pm 222.55	378.01	157.4	246.91	0	0.001
IFN-γ	5.84 \pm 15.07	0.7	9.98	8.07	8.88	0.199
TNF-α	202.19 \pm 67.63	150.43	224.73	279.81	211.67	0.0001
Resistina	519.08 \pm 241.82	374.98	573.49	682.02	753.95	0.0001
ICAM-1	565.09 \pm 103.21	463	635.06	600.7	687.07	0.0001
VCAM-1	2721.71 \pm 616.85	2348.45	3051.31	2672.72	3077.09	0.031
E-Selectina	4223.73 \pm 1583.61	4149.9	3874.25	5378.64	4505.67	0.133

Al analizar la IL-1 β encontramos diferencia significativa entre los pacientes sin actividad y aquellos que presentan actividad clínica ($p=0.0001$). Sin embargo en los pacientes con actividad, independientemente de la severidad de la misma, no se evidenció diferencia significativa. El promedio de IL-1 β fue de 11.96 pg/ml \pm 13.16 pg/ml. En pacientes sin actividad los niveles de IL 1- β fueron de 2.32 pg/ml, 17.02 pg/ml en pacientes con actividad leve, 19.5 pg/ml en moderada y 25 pg/ml en actividad severa, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los grupos con diferente actividad clínica, los promedios indican una cierta tendencia al incremento en la concentración de esta citocina. (Gráfica 3).



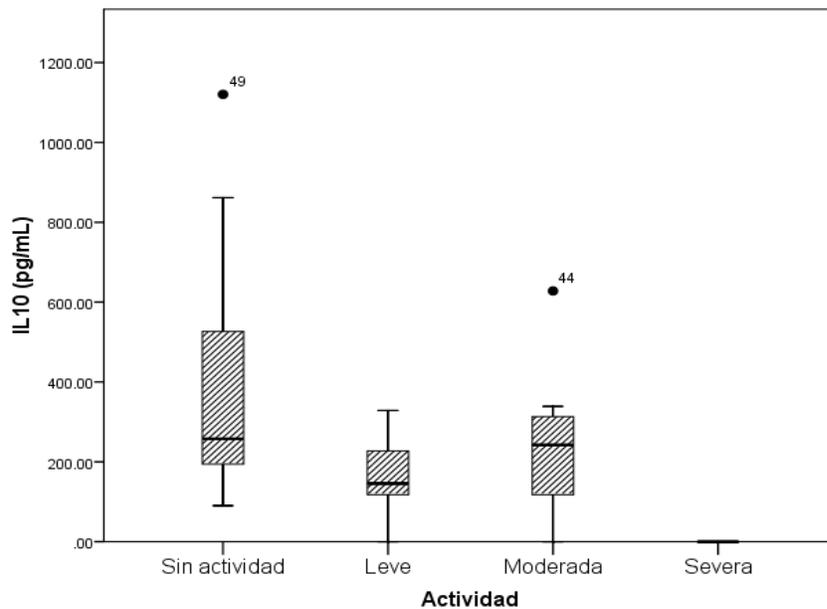
Al estudiar IL-6 no encontramos diferencia significativa ($p=0.232$) entre pacientes sin actividad clínica o con actividad, lo que indica que las concentraciones de IL-6 se mantienen constantes en todo el espectro de la enfermedad y que la inflamación crónica esta en relación con los niveles séricos de IL-6. (Gráfica 4)

GRAFICA 4. IL6 Y ACTIVIDAD CLINICA

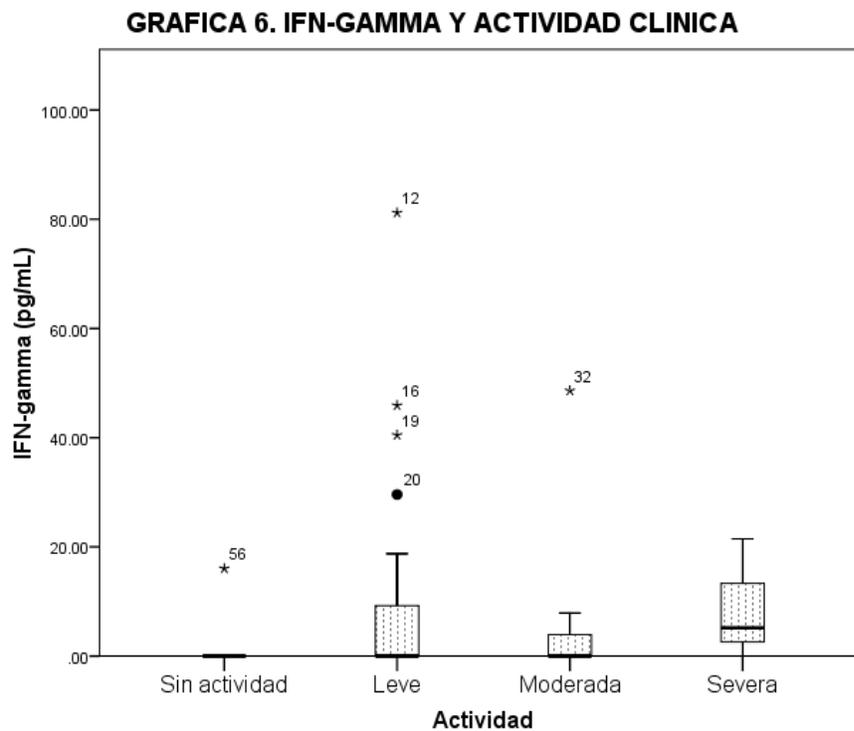


Encontramos una notoria diferencia significativa entre IL-10 y el grado de severidad clínica ($p=.001$). El promedio de la concentración de IL-10 en pacientes sin actividad fue de 378.01 pg/ml, en comparación con la media de los pacientes con actividad severa la cual fue de 0 pg/ml con una p (0.013). No encontramos diferencia significativa entre los pacientes que presentaron algún grado de actividad clínica. (Gráfica 5).

GRAFICA 5. IL10 Y ACTIVIDAD CLINICA

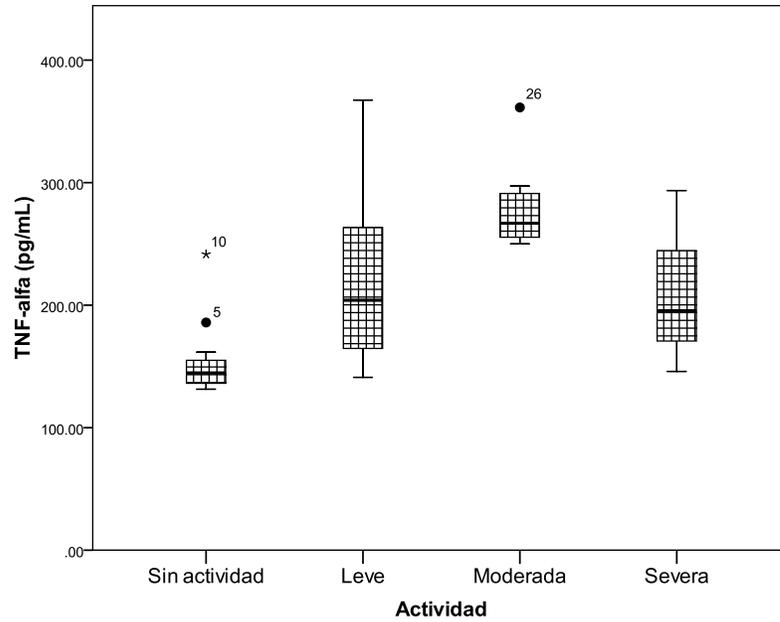


La concentración promedio de IFN- γ fue de 5.84 ± 15.07 pg/ml, no encontrando diferencia significativa entre los grupos ($p=0.199$). (Gráfica 6). Por la baja concentración sérica detectada en todos los grupos es probable que su efecto dentro del espectro de la patología sea muy limitado.



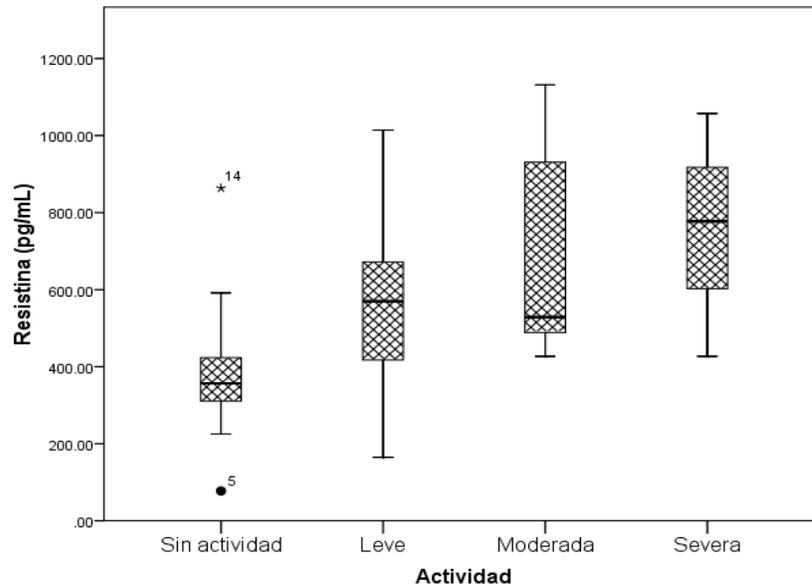
El promedio de concentración de TNF- α en los pacientes estudiados fue de 202.19 ± 67.63 pg/ml con una diferencia significativa entre grupos ($p=0.0001$). Al comparar los pacientes sin actividad clínica con cualquier grado de actividad encontramos una $p=0.00001$, de igual forma al comparar aquellos con actividad leve y moderada ($p=0.0001$), mientras que no encontramos diferencia significativa en pacientes con actividad severa y actividad leve o moderada ($p=0.21$) (Gráfica 7).

GRAFICA 7. TNF-alfa Y ACTIVIDAD CLINICA

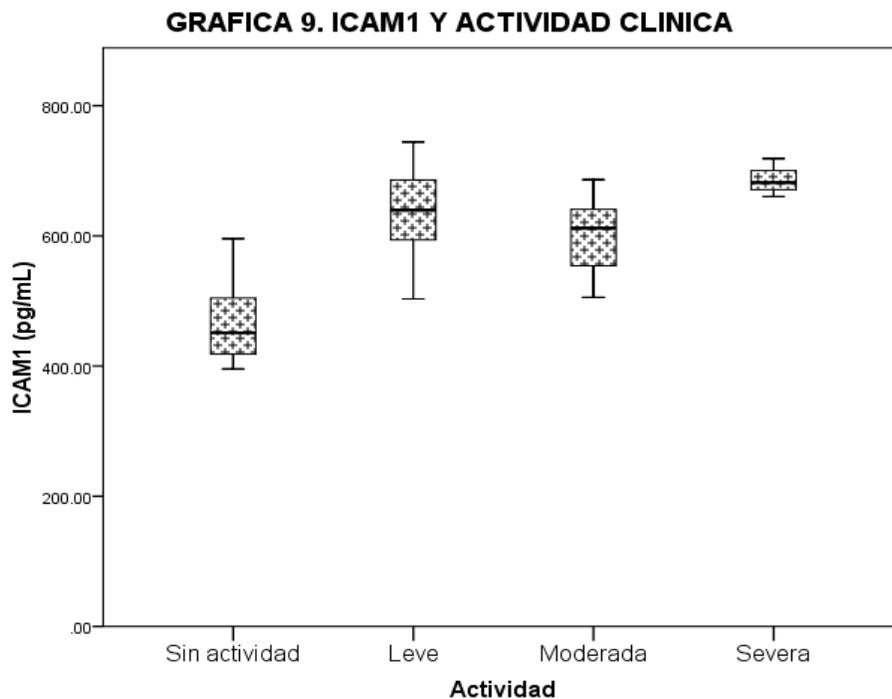


El promedio en los niveles de resistina fue de 519.08 ± 241.82 pg/mL . Se evidenció una diferencia significativa inter e intragrupal ($p=0.0001$). No se encontró diferencia significativa en los pacientes con algún grado de actividad clínica, sin embargo existe una clara tendencia al incremento de las concentraciones séricas de resistina en relación con la actividad. (Gráfica 8).

GRAFICA 8. RESISTINA Y ACTIVIDAD CLINICA

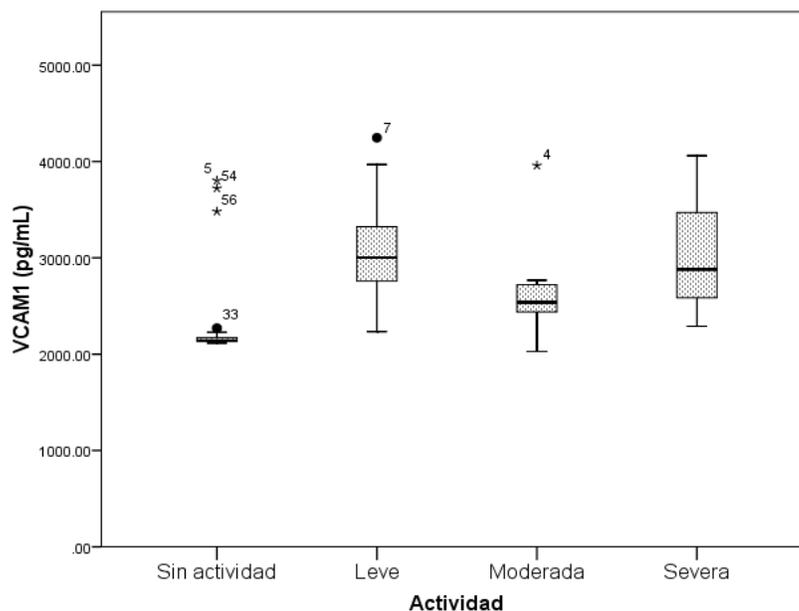


La concentración media de ICAM-1 fue de 565.09 pg/ml \pm 103.21 g/ml. Se encontró una diferencia significativa inter e intragrupal ($p=.0001$) entre los pacientes en remisión y aquellos que presentan actividad clínica. No se encontró diferencia significativa al comparar los grupos de pacientes con algún grado de actividad. (Gráfica 9)



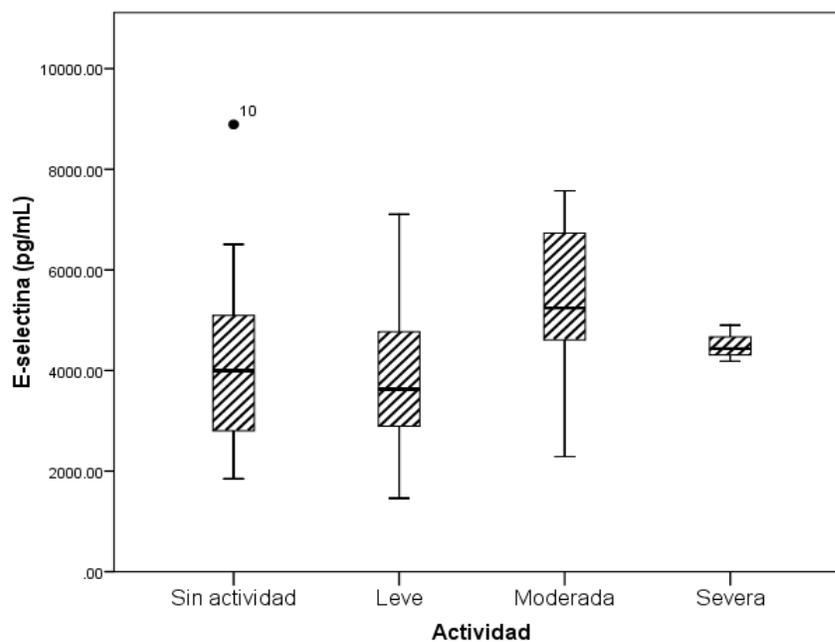
El promedio obtenido de VCAM-1 fue de 2721.1 pg/ml \pm 616.85, con una $p=0.031$. Sin embargo al realizar análisis entre los grupos encontramos solo significancia estadística importante al comparar pacientes sin actividad y pacientes con actividad leve ($p=0.0001$). Al comparar aquellos sin actividad contra aquellos con actividad moderada y severa no se encontró significancia estadística ($p=0.459$ y $p=.132$ respectivamente). De igual manera no se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar pacientes con algún grado de actividad (Gráfica 10).

GRAFICA 10. VCAM1 Y ACTIVIDAD CLINICA



El valor medio de E-selectina fue de 4223.53 pg/ml \pm 1583.65 pg/ml, sin encontrar diferencia significativa de sus niveles al compararlos con el grado de actividad clínica de la enfermedad. (Grafica 11).

GRAFICA 11. E-SELECTINA Y ACTIVIDAD CLINICA



E-selectina fue la molécula de adhesión que se detectó en mayor concentración en todos los grupos analizados.

Al realizar un análisis mediante ANOVA comparando la extensión de la Colitis Ulcerativa, con los niveles de citocinas estudiadas (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-10, ICAM-1, VCAM-1, Resistina y E-selectina), únicamente encontramos diferencia significativa para IL-10 ($p=0.0001$) inter e intragrupal, en donde los pacientes con proctitis presentaron mayores concentraciones de IL-10, que en el resto de las extensiones. No existieron diferencias significativas en el resto de las citocinas.

Quedando la concentración de todas las citocinas y moléculas de adhesión de la siguiente manera: **E-selectina > VCAM-1 > ICAM-1 > VCAM-1 > Resistina > IL-10 > TNF- α > IL-6 > IL-1 β > IFN- γ .**

DISCUSION

Los patrones de enfermedad inflamatoria intestinal están determinados en gran medida por el tipo de respuesta inmune que la origine. La enfermedad de Crohn (EC) tiende a expresar niveles mayores de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IFN- γ e IL-12 y menores de citocinas antiinflamatorias, por ello se dice que la principal respuesta inmunitaria es de tipo Th1. Por el contrario en la Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica (CUCI) se observan mayores niveles de interleucinas antiinflamatorias como IL-10 y TGF- β , respuesta inmunitaria Th2 (9). Sin embargo, al realizar un análisis de dichas interleucinas en las diferentes fases de actividad del CUCI, encontramos que algunas de ellas influyen directamente en el comportamiento clínico de la enfermedad, independientemente del tipo de respuesta inmune.

Se ha concluido en estudios previos que la familia de la interleucina 1, se encuentra presente en desórdenes inflamatorios, donde la producción local de IL-1 β e IL-1 receptor agonista (IL-1RA) correlaciona con la actividad de la enfermedad. En CUCI, la IL-1 β parece jugar un papel fundamental, en efectos biológicos asociados al proceso inflamatorio, tales como fiebre, neutrofilia, niveles bajos de albúmina, dolor y anorexia. Hendel y cols. encontraron aumento de la IL-1 β en pacientes con actividad endoscópica, utilizando un filtro de papel aplicado sobre la mucosa colónica inflamada, midiendo su concentración con técnica de ELISA, correlacionando dicha concentración con el grado de actividad endoscópica del paciente, así mismo documentaron su disminución en la mucosa colónica del mismo paciente ya con remisión de la enfermedad (18).

Wedrychowicz y cols, encontraron que la presencia de IL-1 β , es un factor predictivo útil en pacientes con CUCI activo e inactivo, la elevación de esta citocina en pacientes sin actividad predice recaídas continuas, y en pacientes con CUCI activo predice la aparición de complicaciones (27).

Nuestro estudio muestra de forma significativa la diferencia de concentraciones de IL-1 β en pacientes con actividad comparada con aquellos con remisión ($p=0.0001$). En los primeros encontramos rangos altos (17-25 pg/ml) de esta citocina, con tendencia a aumentar sus niveles en relación al incremento en la severidad de la actividad clínica, por lo que podemos concluir que la elevación de esta citocina se correlaciona directamente con la actividad de la enfermedad y la severidad de la misma, ya que los pacientes sin actividad presentaron niveles bajos con un promedio de 2.3 pg/ml.

Hyams y cols, describieron elevación de IL-6 en pacientes con actividad, sin diferencia significativa entre grados de severidad, con tendencia a presentar mayor elevación en aquellos con mayor grado de actividad clínica (31).

Mitsuyama y cols, en 1995, reportaron diferencia significativa en los niveles de IL-6, encontrándose mas elevados en pacientes con CUCI activo, comparado con aquellos sin actividad. Estableció que esta citocina se libera sistemáticamente durante la inflamación (25), por lo que al aumentar la cantidad de pacientes estudiados, en el 2005 (32), no encontraron diferencias significativas entre pacientes con actividad clínica y en remisión de la enfermedad.

En nuestro estudio, la IL-6 mostró concentraciones constantes en los diferentes grados de actividad, así como en aquellos pacientes sin actividad clínica evidente, con un promedio de 12.28 pg/ml y un rango 10 -13 pg/ml, no encontrando diferencia estadísticamente significativa inter e intragrupal ($p=0.232$), estableciendo así la presencia de esta citocina de forma crónica en la enfermedad, no influyendo en la activación clínica o remisión de la misma.

Melgar y cols, encontraron niveles elevados de IL-10 en la mucosa colónica de pacientes con CUCI activo, sin embargo, dicha elevación no se correlacionó de forma directa con la elevación de sus niveles séricos, concluyendo que en CUCI activo se presenta elevación local de IL-10, no así elevación sérica (33), lo

que probablemente explique los resultados obtenidos en nuestro estudio, en donde al correlacionar la extensión de la enfermedad con las concentraciones séricas de IL-10, los pacientes con proctitis presentaban mayor concentración que los pacientes con pancolitis, ($p=0.0001$), evidenciando así su papel antiinflamatorio.

Ebert concluye en estudios preliminares con humanos que la administración de IL-10 disminuye la respuesta inflamatoria local en la enfermedad inflamatoria intestinal aunque este no es el único factor que regula dicha respuesta inflamatoria, ya que esta citocina interrumpe el ciclo de estimulación de las células T mediado por el gen APC ⁽³⁴⁾.

En el comportamiento de la IL-10 a nivel sérico, Nikolaus encontró que la IL-10 inhibe la secreción de citocinas inflamatorias como IL-1 β y TNF- α ⁽³⁵⁾, lo que justifica las concentraciones elevadas de esta citocina en pacientes sin actividad (378.01 pg/ml) y las nulas concentraciones séricas en pacientes con actividad severa (0 pg/ml), encontradas en nuestro estudio con un valor de $p=0.001$, estableciendo que esta citocina antiinflamatoria juega un rol protector en pacientes sin actividad de la enfermedad, lo mismo que Mitsuyama y cols corroboraron al concluir que los niveles de IL-10 se incrementan durante la fase de recuperación de los pacientes, proponiendo la medición de esta citocina como un marcador útil en el monitoreo de esta enfermedad ⁽³⁶⁾.

La mayoría de los autores coinciden en que el IFN- γ , es una citocina proinflamatoria, que juega un papel importante en pacientes con enfermedad de Crohn, a diferencia de TNF- α , en el CUCI, IFN- γ no parece presentar una elevación con respecto a los controles en individuos sanos ^(22,37,38), lo que corrobora que es una citocina inflamatoria tipo Th1. Nosotros encontramos mínimas concentraciones de IFN- γ en pacientes sin actividad y con actividad, incluyendo aquellos con actividad severa, en los que se podría esperar una mayor concentración.

TNF- α es la citocina proinflamatoria clave en la enfermedad de Crohn y la base del manejo de esta enfermedad inflamatoria intestinal, sin embargo se ha encontrado elevada en sangre, mucosa colónica y heces de pacientes con CUCI (12, 39, 40). El rol del TNF- α en la patogénesis de la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica, aun continúa en debate, así como el manejo de esta enfermedad con medicamentos que inhiben la acción de esta citocina (41).

Gotteland, cultivó células colónicas con RPMI 1640 (suero fetal bovino al 10%, piruvato 1% y una mezcla de antibióticos) de individuos sanos y de pacientes con CUCI sin actividad, no encontrando diferencia significativa en las concentraciones de TNF- α ($p=0.09$) (22). Por el contrario Reinecker (42), demostró que la secreción de TNF- α se correlaciona con la severidad del CUCI, al medir sus concentraciones séricas en pacientes con CUCI en remisión y CUCI con diferentes grados de actividad clínica encontrando una $p=0.05$. En aquellos con algún grado de actividad, los promedios de concentración fueron más elevados, mismos que aumentaban conforme aumentaba el grado de severidad clínica de la enfermedad, sin encontrar significancia estadística entre estos grupos, únicamente tendencia a elevar sus cifras encontrando la mayor concentración en pacientes con actividad severa.

Estos resultados son similares a los hallazgos de nuestro estudio, donde encontramos mayores cantidades de TNF- α en pacientes con actividad, obteniéndose una $p= 0.0001$, sin tendencia de TNF- α a elevarse con el grado de actividad clínica ya, que en los pacientes con actividad severa ($n=3$), se encontró una disminución de estos niveles en comparación con actividad moderada, debido probablemente a que la cantidad de pacientes con actividad severa fue pequeña.

Existen pocos estudios acerca del papel que juega la resistina en la susceptibilidad de la mucosa colónica a la inflamación. Hogan (30) , demostró en ratones, a los que induce una enfermedad inflamatoria intestinal, que los niveles

de esta citocina aumentan con la severidad de la enfermedad, en comparación con los ratones control que presentan bajas concentraciones de resistina. Por su parte Munitz ⁽⁴³⁾, quien también emplea modelos murinos, induciendo inflamación intestinal en dos grupos de ratones, el primero transgénico diseñado genéticamente al introducir un gen para producir resistina y el segundo nocáut, es decir carente de este gen para que no produzca esta citocina. Encontró que aquellos quienes genéticamente producen resistina presentan niveles elevados de IL-6 y TNF- α así como bajas concentraciones de IL-10, mostrando que los niveles bajos de resistina en los ratones sin el gen, promueven la reparación tisular reduciendo la inflamación, demostrándose así que es una molécula de inmunidad innata y de respuesta proinflamatoria, identificando así una nueva vía de regulación para la activación de macrófagos. Las concentraciones elevadas de resistina en pacientes con actividad de CUCI encontradas en el presente estudio, se relacionan con los trabajos realizados en ratones por los autores antes mencionados. Evidenciamos una diferencia significativa entre pacientes con actividad y sin actividad de la enfermedad, así mismo se muestra una clara tendencia a incrementar las concentraciones de esta citocina conforme aumenta la severidad clínica de la enfermedad.

ICAM-1 y VCAM-1 son moléculas de adhesión celular que ayudan a los leucocitos a moverse a través de las células endoteliales, y presumiblemente también se encuentran implicadas en la migración de los leucocitos a través de la lámina propia del colon hasta llegar a la mucosa, aunque su papel proinflamatorio aun no está bien definido. Vainer y cols, estudiaron ambas moléculas, las cuales fueron medidas en 19 pacientes con CUCI, quienes presentaban diferentes grados de actividad. Al compararlas con sujetos controles, se encontraron más elevadas en pacientes con la enfermedad. En este mismo estudio se evidenció diferencia significativa cuando se compararon pacientes con actividad y sin actividad, ya que los primeros presentaron concentraciones de ICAM-1 y VCAM-1 más elevadas. También encontraron una relación directa, con diferencia significativa, entre el aumento de los niveles de ICAM-1 y VCAM-1 y la severidad clínica de la

enfermedad (29). En nuestro estudio se encontraron resultados muy similares al obtener significancia estadística inter e intragrupal entre los pacientes con actividad y sin actividad ($p=0.0001$ y 0.03 respectivamente), sin embargo no encontramos diferencia significativa entre los pacientes que presentaban actividad, aunque en el caso de ICAM-1, si se encontró cierta tendencia a elevar las concentraciones a mayor actividad clínica, no así en VCAM-1 en la cual los niveles séricos se mantienen constantes en los diferentes grados de severidad.

E-Selectina es expresada en células endoteliales y es movilizada rápidamente a las superficies celulares posterior a su activación. Su función es adherir linfocitos circulantes para que posteriormente ICAM-1 lo fije a la superficie endotelial de donde posteriormente migrarán al sitio de inflamación. Vainer y cols, encontraron elevación de los títulos de E-selectina en pacientes con CUCI en relación a los sujetos control, sin embargo, al realizar un análisis inter e intragrupal no encontró diferencia significativa entre los pacientes con actividad y sin actividad del CUCI (29). Resultados similares fueron reproducidos en nuestro estudio, encontrando un promedio de concentración de E-selectina de 4223.73 ± 1583.61 pg/ml, siendo los niveles mas elevados de todas las citocinas incluidas en nuestro estudio, al igual que Vainer y cols al comparar los pacientes con actividad clínica con aquellos que no la presentaban, no encontramos diferencia significativa ya que esta molécula mantiene concentraciones elevadas de forma constante incluso en pacientes sin actividad, no mostrando ninguna tendencia en relación a la severidad de la enfermedad.

Existe una tendencia al manejo médico de la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica, reservando el quirúrgico para pacientes de difícil control, que no respondan al manejo conservador y dependientes de esteroides. Este estudio confirma la posible utilidad de algunos medicamentos que se encuentran actualmente en el mercado, que aun no son aprobados para el manejo de esta entidad clínica, así mismo revela nuevos posibles mecanismos de inflamación de esta enfermedad, que en el futuro puedan ser útiles en el desarrollo de fármacos

enfocados a inhibir algunas de las moléculas que se encontraron alteradas en nuestro estudio, y que pueden ser factores desencadenantes o precipitantes de recaídas o de persistencia de la actividad clínica del CUCI, así mismo, pensar también en producir citocinas anti-inflamatorias como IL-10, que ayuden a detener o prevenir la aparición o exacerbación de actividad en nuestros pacientes y que también nos ayuden a inducir remisión en los mismos sin que presenten efectos colaterales.

CONCLUSIONES

- La elevación de IL-1b, resistina, ICAM-1 y VCAM-1 se asocian fuertemente al grado de actividad clínica del CUCI.
- Las concentraciones séricas de IL-10 son mayores cuando la Colitis Ulcerosa Crónica Inespecífica se encuentra en remisión, mostrando su papel anti-inflamatorio en la fisiopatogenia de la enfermedad y también, tiene relación con la extensión colorectal de la enfermedad, elevándose en pacientes con proctitis y disminuyendo en pancolitis.
- Las concentraciones de IL-6 no se modifican con la actividad clínica de la enfermedad.
- TNF- α , mostró concentraciones mayores en pacientes con actividad clínica
- IFN- γ no tiene relación con la actividad clínica de la colitis ulcerosa
- La E-selectina fue la citocina con mayor elevación sérica en pacientes con y sin actividad clínica, relacionándose más con la cronicidad de la enfermedad que con la actividad..

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Frieri G, Giacomelli R, Pimpo M. Mucosal 5-aminosalicylic acid concentration inversely correlates with severity of colonic inflammation in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2000; 47:410–414
- 2.- Collins P, Rhodes J. Ulcerative colitis: diagnosis and management. *BMJ* 2006 ; 333: 340-343
- 3.- Daig R, Rogler G, Aschenbrenner E. Human intestinal epithelial cells secrete, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-8 but not interleukin-1 or interleukin-6. *Gut* 2000; 46: 350–358
- 4.- Grimm MC, Elsbury SK, Pavli P, Doe WF. Interleukin 8: cells of origin in inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38: 90-98
- 5.- Nayar M, Rhodes JM. Management of inflammatory bowel disease; *Postgrad Med J* 2004. 80:206–213
- 6.- Cima R, Pemberton J. Medical and Surgical Management of Chronic Ulcerative Colitis. *Arch Sug* .2005; 140 : 300 -10
- 7.- Vergara O, Takahashi T, González Q. Current concepts in chronic nonspecific ulcerative colitis. *Cir Gen* 2006; 28: 42-49
- 8.- Rutgeerts P; Sandborn W. Infliximab for Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2462-76
- 9.- Takahashi T. Colitis ulcerativa crónica inespecífica I: generalidades y diagnóstico. 1era. Ed; México, DF; Editores de textos mexicanos: 408-418.

10.- Costa F, Mumolo M, Ceccarelli L. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 364–368.

11.- Sandborn WJ, Faubion WA. Biologics in inflammatory bowel disease: How much progress have we made? *Gut* 2004; 53: 1366–1373

12.- Rutgeerts P; Sandborn, William J.; Infliximab for Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis; *N Engl J Med* 2006; 351: 262-76

13.- Aizawa S, Matsuoka M. Association of interleukin-18 gene single-nucleotide polymorphisms with susceptibility to inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*. 2005; 65: 88–92

14.- Guruprasad P, Craggs A, Day C. Role of Polymorphisms in the Interleukin-10 Gene in Determining Disease Susceptibility and Phenotype in Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci* 2001; 46; 7:1520–1525

15.- Carlson M, Raab Y, Sevéus L. Human neutrophil lipocalin is a unique marker of neutrophil inflammation in ulcerative colitis and proctitis. *Gut* 2002; 50: 501–506

16.- Carter M, Giovine F, Jones S, Association of the interleukin 1 receptor antagonist gene with ulcerative colitis in Northern European Caucasians. *Gut* 2001; 48: 461–467

17.- Hacker U, Gomolka M, Keller E. Lack of association between an interleukin- 1 receptor antagonist gene polymorphism and ulcerative colitis. *Gut* 1997; 40: 623-627

18.- Hendel J, A simple filter-paper technique allows detection of mucosal cytokine levels in vivo in ulcerative colitis: Interleukin-1 and interleukin 1 receptor agonist. *Dig Dis Sci* 1996; 41 (9): 1775-1779

19.- Nielsen O, Koppen T. Involvement of Interleukin-4 and -10 in Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci* 1996; 41(9): 1786-1793.

20.- Futoshi A, Takahashi T, Furukawa K. Mucosal Expression of Interleukin-6 and Interleukin-8 Messenger RNA in Ulcerative Colitis and in Crohn's Disease . *Dig Dis Sci* 1998; 43(9): 2071-2079

21.- Limura M, Nakamura T, Shinozaki S. Bax is downregulated in inflamed colonic mucosa of ulcerative colitis. *Gut* 2000; 47:228–235.

22.- Gotteland M, López M, Muñoz C. Local and Systemic Liberation of Proinflammatory Cytokines in Ulcerative Colitis. *Dig Dis Sci* 1999; 44(4): 830-835

23.- Fujino S, Andoh A, Bamba S, Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease . *Gut* 2003 ; 52: 65–70

24.- Seegert S, Rosenstiel P, Pfahler H, Increased expression of IL-16 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2001; 48:326–332

25.- Mitsuyama K, Toyonaga A, Sasaki E. Soluble interleukin-6 receptors in inflammatory bowel disease: relation to circulating interleukin-6. *Gut* 1995; 36: 45-49.

26.- Cole AT, Pilkington B, McLaughlan J. Mucosal factors inducing neutrophil movement in ulcerative colitis: the role of interleukin 8 and leukotriene B4. *Gut* 1996; 39: 248-254

27.- Wedrychowicz A, Drabarek M, Przybyszewska K, Fyderek K. P0126, PP serum interleukine 1 beta and interleukine 1 receptors antagonist as predicting

factors relapses and complications in ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39 (1) : S105

28.- Vainer B. Changed colonic profile of P-selectin, platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), ICAM-2, and ICAM-3 in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2000; 121:242-247.

29.- Vainer B. Comparative Studies of the Colonic In Situ Expression of Intercellular Adhesion Molecules (ICAM-1, -2, and -3), 2 Integrins (LFA-1, Mac-1, and p150,95), and PECAM-1 in Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *Am J Surg Pathol* 2000 ; 24(8): 1115–1124.

30.- Hogan S, Seidu L, Blanchard C, *et al.* Resistin-like molecule β regulates innate colonic function: Barrier integrity and inflammation susceptibility. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 257-268.

31.- Hyams JS, Fitzgerald JE, Treem WR, *et al.* Relationship of functional and antigenic interleukin 6 to disease activity in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1993;104:1285–92.

32.- Mitsuyama K, Tomiyasu N, Suzuki A *et al.* A form of circulating interleukin-6 receptor component soluble gp 130 as a potential interleukin-6 inhibitor in inflammatory bowel disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2005; 143: 125–131.

33.- Melgar S, *et al.* Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 134 :127–137.

34.- Ebert E, et al. Activation antigens on colonic T cells in inflammatory bowel disease: effects of IL-10. *Clinical and Experimental Immunology* 2005; 140:157–165.

35.- Nikolaus S, et al. Increased secretion of pro-inflammatory cytokines by circulating polymorphonuclear neutrophils and regulation by interleukin 10 during intestinal inflammation. *Gut* 1998;42:470–476.

36.- Mitsuyama K et al. Interleukin-10 in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Increased Serum Concentrations During the Recovery Phase. *Mediators of Inflammation* 2006: 1-7

37.- Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, et al. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996; 157:1261-1270.

38.- Breese E, Braegger CP, Corrigan CJ, Walker-Smith JA, MacDonald TT: Interleukin-2 and interferon-[gamma]-secreting T cells in normal and diseased human intestinal mucosa. *Immunology* 1993; 78:127-131.

39.- Murch S, Lamkin V, Savage M, et al. Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1991; 32: 913-7

40.- Braegger C, Nicholls S, Murch S, et al. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992; 339: 89-91.

41.- Mizoguchi E, Mizoguchi A, Takadatsu H, et al. Role of tumour necrosis factor receptor 2 (TNFR2) in colonic epithelial hyperplasia and chronic intestinal inflammation in mice. *Gastroenterology* 2002;122:134-44

42.- Reinecker H, Steffen M, Witthoeft T, *et al.* Enhanced secretion of tumor necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1[beta] by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 1993; 94:174-181.

43.- Munitz A, Waddell A, Seidu L, *et al.* Resistin-like molecule α , enhances myeloid cell activation and promotes colitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008 ;122: 1200-1207.

ANEXO 1
HOJA DE CAPTACION DE DATOS

Nombre _____

Número de seguridad social (IMSS): _____

Fecha de captación : _____

Sexo (M ó F) _____

Tabaquismo _____

Alcoholismo: _____

Diabetes Mellitus: No () Si (): Tipo 1 () Tipo 2 ()

Peso _____ Talla _____ IMC: _____

VARIEDAD:

TIEMPO DE EVOLUCION DE ENFERMEDAD:

	Leve		Moderada		Severa	
Num. Evacuaciones	<4		4 a 6		> a 6	
Pulso	< 90		90 a 100		>100	
Hematocrito	>40		30 a 40		< 30	
Perdida de peso	Ninguna		1 a 10		>10	
Temperatura	Normal		< 38		> 38	
VSG	Normal		20 a 30		> 30	
ACTIVIDAD:						

MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES:

- Eritema nodoso _____
- Ulceras aftosas _____
- Epiescleritis _____
- Artropatía aguda _____
- Pioderma gangrenoso _____
- Uveítis arteriovenosas _____
- Sacroileitis _____
- Espondilitis anquilosante _____
- Colangitis esclerosante _____

ANEXO 2.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL SERVICIO DE CIRUGIA DE COLON Y RECTO

El presente instrumento tiene por objeto, formalizar y hacer constar el *CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA ATENCION MEDICA Y PROCEDIMIENTO QUIRURGICO* entre el paciente o usuario, familiar o tutor o representante legal y la UMAE Hospital de Especialidades Centro Medico Nacional "Siglo XXI", al Servicio de Cirugía de Colon y Recto y a todos y cada uno de sus médicos, adscritos y residentes por la prestación de servicios de salud encomendados a esta institución en cumplimiento a los artículos 22 de la Ley del Seguro Social; 6, 59, y 64 del Reglamento de Servicios Médicos; 50, 51 y 103 de la Ley General de Salud; 29,80,81,82 y 83 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica; y a los puntos 4.2 y 10.1.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM – 168 – SSA1 – 1998, del expediente clínico publicada en el Diario oficial de la Federación el día 30 de Septiembre de 1999.

El suscrito (paciente o usuario, o en su caso, familiar, tutor o representante legal):

Con número de afiliación institucional (o identificación oficial):

En pleno uso de mis facultades y en ejercicio de mi capacidad legal DECLARO lo siguiente:

1. Expreso mi libre voluntad para ingresar al Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional "Siglo XXI" para efecto de recibir la atención médica requerida sometiéndome con ese objeto al cumplimiento de la normatividad establecida en la Ley del Seguro Social y sus Reglamentos.
2. Que el Doctor JOSE LUIS ROCHA RAMIREZ, médico adscrito al servicio, me ha proporcionado la información completa sobre mi enfermedad y estado actual, la cual fue realizada en forma amplia, precisa y suficiente en lenguaje CLARO y SENCILLO

- a. Que el objetivo fundamental es tratar de mejorar mi salud física y mental y mejorar la calidad de vida evitando al máximo posibles riesgos y complicaciones derivados de las intervenciones o procedimientos realizados.
 - b. Se me ha garantizado la salvaguarda de mi intimidad, privacidad y que no será divulgada o publicada información alguna derivada del estudio de mi padecimiento salvo con mi consentimiento expreso por escrito.
 - c. Que se me ha permitido externar todas las dudas que me han surgido, derivadas de la información recibida, por lo que manifiesto estar enteramente satisfecho y he comprendido cabalmente los alcances, los riesgos y alternativas de la posible solución a mi padecimiento, enfermedad y estado actual.
3. Ante la información proporcionada en forma completa sobre el diagnóstico, tratamiento y pronóstico correspondientes a mi padecimiento, enfermedad o estado actual, mediante el presente expreso mi CONSENTIMIENTO LIBRE, ESPONTANEO Y SIN PRESION alguna, para que se realicen los procedimientos requeridos para la realización de esta investigación. Asimismo, ACEPTO Y AUTORIZO se me atiendan las contingencias y emergencias derivadas de la atención médica que pudieran presentarse; teniendo el suscrito en cualquier momento la libertad de REVOCAR ESTE CONSENTIMIENTO y de rehusar el tratamiento y/o de solicitar alta voluntaria por así convenir a mis intereses, liberando al tomar esta determinación de cualquier tipo de responsabilidad médico – legal a las autoridades y personal respectivo de este Hospital.
4. Que nombro a (familiar, tutor, o representante legal):
-
- como mi representante para la toma de decisiones en relación a mi padecimiento, enfermedad o estado actual que sobre mi persona puedan requerirse si por alguna circunstancia me veo incapacitado al efecto, sea de modo temporal o permanente.
5. Para el caso de que el paciente o usuario esta imposibilitado para suscribir este documento, el familiar, tutor o representante legal, manifiesta haber sido informado

de todos y cada uno de los puntos anteriores, los cuales hacen suyos a nombre del paciente o usuario, ACEPTANDOLOS en todos sus términos para los efectos legales correspondientes, al estampar su firma.

México, Distrito Federal, a de de.

Nombre y firma del
paciente, usuario, familiar,
tutor o representante legal

Nombre y firma del médico
responsable

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

NOTA: Este documento no debe presentar abreviaturas ni enmendaduras