



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN Y CIENCIAS MÉDICAS
"SALVADOR ZUBIRÁN"**

SERVICIO DE ENDOCRINOLOGÍA

TESIS DE POSGRADO

**EVALUACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA ALVEOLO-
CAPILAR EN PACIENTES ADULTOS CON DIAGNÓSTICO DE ASMA
ASOCIADO CON DIABETES MELLITUS 2.**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN ENDOCRINOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARÍA AUGUSTA NARANJO MENESES

DIRECTORES DE TESIS:

DRA IVETTE CRUZ BAUTISTA.

DRA. PALOMA ALMEDA VALDES

Ciudad de México. 2 DE AGOSTO DE 2016



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

EVALUACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA ALVEOLO-CAPILAR EN PACIENTES ADULTOS CON DIAGNÓSTICO DE ASMA ASOCIADO CON DIABETES MELLITUS 2.

Dra. Ivette Cruz Bautista
Directora de Tesis

Adscrita el departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Dra. Paloma Almeda Valdés
Directora de Tesis

Adscrita el departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Dr. Francisco Javier Gómez Pérez

Jefe del departamento de Endocrinología y Metabolismo
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Sergio Ponce de León Rosales

Jefe de Enseñanza
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Ciudad de México. 2 DE AGOSTO DE 2016

INDICE

1. Resumen	4
2. Marco teórico	5
3. Justificación	13
4. Hipótesis	13
5. Objetivos	13
6. Variables	15
7. Metodología	16
8. Resultados	21
9. Discusión	36
10. Conclusiones	41
11. Bibliografía	42

RESUMEN:

Introducción: La inflamación (I) y el estrés oxidativo (EO) se consideran la vía común para las enfermedades crónicas- degenerativas como el asma, la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. Debido al incremento en la I y EO crónicos en estos pacientes, se favorece el riesgo de daño al endotelio vascular. La resistencia a la insulina asociado a la obesidad, conlleva a la elevación en la concentración de ácidos grasos libres y en la glucemia asociada a la diabetes mellitus. El objetivo de este estudio, es evaluar el posible impacto de la diabetes mellitus tipo 2 sobre la función pulmonar en pacientes asmáticos con sobrepeso u obesidad grado I y II.

Material y métodos: Se estudiaron las interacciones del proceso inflamatorio crónico, de la elevación de citocinas proinflamatorias en muestras de expectoración (E), condensado de aire espirado (CAE) y suero en cuatro grupos de pacientes: A: Asmáticos, S/O: sobrepeso/obesidad, A/S/O: Asmáticos-sobrepeso/obesidad y A/S/O/DM2: Asmáticos-sobrepeso/obesidad-DM2.

Resultados: En las muestras de E y de suero, la IL-8 ($p=0.021$) fue mayor en el grupo A/S/O (178.6 ± 74.5 ;) vs el grupo S/O (63.1 ± 56.3) ($p: 0.05$), mientras que en suero se observó el efecto inverso A/S/O (0.8 ± 0.7) y S/O (1 ± 0.4). En el CAE, la concentración de IL-10 fue más elevada en el grupo A (2.5 ± 2.8) versus el resto de los grupos aunque no mostró diferencia estadísticamente significativa. Conclusión: Hasta el momento no podemos concluir que la obesidad asociada a diabetes

mellitus 2 modifique el estado inflamatorio del asma. Continuamos con la inclusión de pacientes para incrementar nuestro tamaño de muestra.

MARCO TEÓRICO

La OMS describe el asma como una enfermedad crónica inflamatoria que se caracteriza por ataques recurrentes de disnea y sibilancias, que varían en severidad y frecuencia de una persona a otra. Los síntomas pueden sobrevenir varias veces al día o a la semana, y en algunas personas se agravan durante la actividad física o por la noche. Este proceso inflamatorio causa infiltración celular, aumento de la permeabilidad vascular, edema y contracción del músculo liso. Más del 80% de las muertes por asma tienen lugar en países de ingresos bajos y medios-bajos tales como México. [1] A menudo, esta patología no suele ser diagnosticada correctamente por lo que el tratamiento y control de la enfermedad es deficiente, lo que limita la actividad del paciente durante toda su vida. En la inflamación de la vía aérea intervienen principalmente citocinas, mastocitos, eosinófilos y linfocitos T entre otras. Al ser activadas, estas células liberan una amplia variedad de mediadores que tienden a mantener y a amplificar el proceso inflamatorio. [2] En el asma, existe una respuesta alérgica de hipersensibilidad tipo I mediada por liberación de IgE.[3] El alérgeno se une a la IgE fijada al receptor FcεRI, formando el complejo “alérgeno-IgE-FcεRI” induciendo la liberación de citocinas y moléculas proinflamatorias. La síntesis de esta inmunoglobulina depende de la IL-4, y ésta a su vez, se incrementa por medio de IL-5, IL-6 e IL-13. La respuesta inicial de las citocinas, producida por un estado de hiperrespuesta se deriva de los mastocitos cuya característica es el alto contenido en proteasas

neutras como la triptasa que se encuentra en la superficie de la mucosa. La liberación de IL-4 y TNF- α inicia el reclutamiento de los leucocitos y este se incrementa gracias a la liberación de la IL-1 por los macrófagos de las vías aéreas los cuales se activan en asmáticos como respuesta a un alérgeno. Posteriormente la IL-4 promueve la activación de los linfocitos TH2 que generan las IL-3, IL-4, IL-5 y el factor estimulante de colonias granulocito-macrófago (GM-CSF). La activación de los linfocitos TH2, seguido de la exposición alérgena en la nariz y las vías aéreas, permitirá que la liberación de citocinas perpetúe la inflamación de la vía aérea debido al reclutamiento y activación de los eosinófilos. [4]

Las citocinas IL-4, IL-3 e IL-5, y el GM-CSF juegan un papel relevante en la eosinofilia que acompaña a la inflamación de las vías aéreas. Lo importante a destacar en este caso es que estas mismas citocinas también sirven de moduladoras, limitando las consecuencias de la inflamación de la vía aérea. De tal manera que el TNF α regula la expresión de la sintasa del óxido nítrico para la modificación del epitelio respiratorio. La IL-4 regula la expresión de los receptores de IgE en los macrófagos y en los eosinófilos, haciendo que estas células sean capaces de interactuar con el alérgeno. La activación posterior de estas células y de otros tipos celulares regenera el conjunto de citocinas dentro de las vías aéreas, lo que contribuye al incremento y mantenimiento de la proliferación de los miofibroblastos, el depósito de colágeno, la hiperplasia y la hipertrofia del músculo liso característicos de la respuesta crónica del asma. [4]

Por otra parte, el sobrepeso, la obesidad y la DM2 también cursan con un proceso inflamatorio. El sobrepeso y la obesidad son patologías de carácter multifactorial

que se ven influenciadas por la carga genética, el estilo de vida, la dieta y el ejercicio de cada paciente. En los últimos años se ha observado que los pacientes obesos presentan un estado inflamatorio crónico de bajo grado como una consecuencia del incremento en la masa del tejido adiposo, que lleva a un aumento en la producción de mediadores proinflamatorios. Esta inflamación crónica se ha relacionado también con la resistencia a la insulina. La respuesta inflamatoria comienza con el reconocimiento de las señales que ocasionan la activación celular y la síntesis de proteínas, modificando la respuesta efectora de las células inmunitarias. Para que esta defensa se inicie de manera eficaz, es necesaria la participación de citocinas con función fundamentalmente proinflamatoria como TNF- α , IL-1 β , interleucina-12 (IL-12), interferón- γ (IFN- γ) y, posiblemente IL-6. Las principales citocinas antiinflamatorias son el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1RA), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y las interleucinas 10, 11 y 13. En condiciones fisiológicas, todas estas moléculas sirven como inmunomoduladoras y, por lo tanto, limitan el efecto potencialmente dañino de la reacción inflamatoria. Sin embargo, en la obesidad, la respuesta antiinflamatoria puede ser insuficiente para contrarrestar la actividad inflamatoria, ya que en esta patología el estado de inflamación es crónico, aunque de bajo grado. Así, mientras que en una primera fase predominan los mediadores de efecto proinflamatorio, en fases posteriores predominan mediadores antiinflamatorios. Los adipocitos estimulados por señales de origen infeccioso o inflamatorio secretan reactantes de fase aguda y mediadores de inflamación. Entre los factores de inflamación expresados en los adipocitos se incluyen TNF- α , IL-6, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), proteína quimiotáctica de

monocitos-1 (MCP1), IL-1 β , IL-8, 10, 15, factor inhibidor de leucemia (LIF), factor de crecimiento del hepatocito (HGF), apolipoproteína A3 (SAA3), factor inhibitorio de la migración de macrófagos (MIMF), moduladores inflamatorios potentes como leptina, adiponectina y resistina, así como la proteína C reactiva (CRP). Las adipocinas intervienen en la inflamación y sus niveles se encuentran modificados en la obesidad. La respuesta inflamatoria en la obesidad es de bajo grado y progresa muy lentamente, por lo que incrementa el riesgo de dañar múltiples sistemas, incluyendo a aquellos involucrados en la homeostasis de la glucosa. [5] Por consiguiente, la obesidad podría favorecer o alterar la evolución de los procesos inflamatorios presentes en el asma.

Las citocinas son glucoproteínas de bajo peso molecular que tras ser liberadas por diversas células, actúan modificando la función de otras células diana. Estas mismas regulan la función de las células inflamatorias que se activan en vías aéreas de pacientes asmáticos, en obesidad y DM2. [4] Las interleucinas que fueron enfatizadas en este estudio fueron las siguientes:

- IL-1 β : Es liberada por macrófagos, monocitos y células dendríticas en respuesta al TNF α . Es una citocina proinflamatoria que puede causar vasodilatación por medio de liberación de óxido nítrico y signos de inflamación localizada. En conjunto con la IL-6 causa elevación de las proteínas hepáticas de fase aguda fibrinógeno y proteína C reactiva. IL-5: Es producida por los Linfocitos T Helper-2 y los mastocitos. Estimula el crecimiento de las células B y aumenta la secreción de inmunoglobulinas y sirve de mediador en la activación de los eosinófilos.

- IL-6: Sus dianas celulares son los linfocitos T y B, las células epiteliales, los monocitos/macrófagos y los hepatocitos y son estimuladas por la IL-1 β y el TNF- α . De la misma manera estimula la producción de las proteínas de fase aguda.
- IL-8: Tiene propiedades proinflamatorias y se sintetiza en los fibroblastos, célula endotelial, monocito y macrófagos y la célula dendrítica. También sirve como factor quimiotáctico de neutrófilos y regula la producción de proteínas de adhesión y la formación de lípidos bioactivos además de que amplifica la respuesta inflamatoria local.
- IL-10: También conocida como factor de inhibición de la síntesis de citocinas, es una citocina con propiedades antiinflamatorias capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos.
- TNF- α : Disminuye la respuesta celular a la insulina y tiene efectos sobre el metabolismo del colesterol y las lipoproteínas. Activa a los leucocitos inflamatorios y su elevación crónica promueve la remodelación tisular.
- PCR: Proteína plasmática circulante que aumenta sus niveles en respuesta a la inflamación (proteína de fase aguda). [6]

En la prueba de CAE valoramos la espiración que es el vapor de agua y moléculas que expresan la situación funcional del pulmón y de otros tejidos. Una de las mayores ventajas teóricas del condensado de aire espirado es la posibilidad de efectuar el análisis de un gran abanico de mediadores de la inflamación, EO e incluso marcadores tumorales en cualquier sujeto y sin ser una prueba invasiva que ponga en riesgo la salud del paciente. Un estudio realizado en Barcelona por

Moreno Galdo y col., [7] mostró que los niños con asma presentan un aumento en la concentración de IL-4 y una disminución en el IFN- γ en el CAE. Los valores de interferón-gamma habían disminuido tanto en niños tratados como en los no tratados con corticoides, mientras que los de IL-4 aumentaron en los no tratados con glucocorticoides (GC), mientras que las concentraciones fueron normales en los tratados con 600 μ g o más de GCI76. Por otra parte, la expectoración se caracteriza por contener secreciones traqueobronquiales en donde también se pueden determinar diversos parámetros inflamatorios como las interleucinas. Ambas pruebas, tanto el condensado de aire espirado como la inducción de expectoración, reflejan las condiciones directas del pulmón. Si se logra demostrar su correlación con los resultados obtenidos en suero de nuestra población, estas pruebas podrían ser utilizadas para un buen seguimiento y supervisión del control de los pacientes. Se han encontrado diferencias en los marcadores de inflamación y de EO en más de una docena de enfermedades, incluso se ha señalado que estas técnicas pueden ser tan útiles y sensibles (sujetos fumadores). [8] El óxido nítrico (NO) es el marcador más estudiado en el aire espirado, es un gas presente en el aire exhalado y se puede medir mediante quimioluminiscencia. [9] En cuanto a las citocinas los resultados no son concluyentes y su determinación sigue siendo estudiada.

Se considera que el análisis de las muestras de esputo inducido es un método reproducible para estudiar la inflamación de las vías respiratorias en el asma. Los marcadores obtenidos del esputo inducido incluyen el recuento diferencial de células y la determinación de la proteína catiónica eosinofílica y se ha reportado

que en los pacientes asmáticos el porcentaje de eosinófilos en el esputo inducido es significativamente mayor que en los pacientes no asmáticos. [10] La utilidad de la identificación de marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido para el control del asma ha sido estudiada en los últimos años. Estos estudios han comparado un algoritmo para ajustar el tratamiento basado en las guías clínicas con el ajuste del tratamiento guiado por el número de eosinófilos en esputo. [11] Un estudio realizado en el Instituto de Salud Carlos III, Valencia, España se enfocó en determinar las concentraciones de IL8, IL13 y TNF- α en el sobrenadante de las muestras de esputo. Se compararon los resultados obtenidos entre individuos fumadores con y sin EPOC y se investigó su relación con la gravedad de la misma expresada según el grado de obstrucción, disnea, presencia de hipersecreción e intensidad del tabaquismo. Los pacientes con EPOC tenían valores significativamente más altos de IL-8 que los fumadores sanos sin EPOC. Los valores de IL8 se correlacionaron de forma significativa con la gravedad de la obstrucción, disnea y la presencia de hipersecreción. Estas diferencias podrían deberse a la acción directa del humo de tabaco sobre las células epiteliales. [11] Estos reportes, como varios más, nos orientan a pensar que existe una correlación entre la elevación de citocinas y el proceso inflamatorio que ocurre en pacientes asmáticos pero también en obesos y diabéticos.

Por ejemplo, en sujetos obesos, las concentraciones en plasma de TNF- α , IL6, proteína C reactiva (PCR) e inhibidor del activador de plasminógeno-1 se encuentran elevadas. Muchos de los mediadores de inflamación, como IL-6, exhiben patrones de expresión que afectan la acción de la insulina de una manera

similar al TNF- α . Se ha observado que la exposición de las células a TNF- α inhibe la fosforilación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1), lo que interfiere con la señalización de la insulina. De igual manera, en ratones obesos que carecen de TNF- α funcional o de receptores para TNF- α , la sensibilidad y acción de la insulina mejora. En conjunto, estos estudios muestran que la sobreexpresión de TNF- α en tejido adiposo es una importante característica de la obesidad y contribuye significativamente a la resistencia a la insulina. Por otro lado, la diabetes y la obesidad se caracterizan por concentraciones elevadas de reactantes de fase aguda, como IL-6 y se sabe que en la DM2 también hay un estado de inflamación crónica. Además, hay evidencias claras de que la inflamación participa de manera importante a través de TNF- α , IL-1, IL-6 principalmente, en la diabetes y la obesidad. [12] Entonces es claro que la inhibición de la señalización de la insulina es el mecanismo central a través del cual la inflamación y el EO producen resistencia a la insulina.

Sabemos que los pacientes con asma y obesidad asociados a diabetes mellitus tipo 2 cursan con un incremento en el estado proinflamatorio y de EO sistémico crónico. Sin embargo, no se han establecido de manera certera la influencia que tiene la diabetes mellitus sobre la función respiratoria en el paciente asmático, las características de un incremento en el daño del epitelio pulmonar ni sus posibles indicadores biológicos para identificar un daño subclínico y/o deterioro en el control de estos pacientes. [13].

JUSTIFICACIÓN:

Se desconoce el mecanismo por el cual la diabetes mellitus altera la función respiratoria en el paciente asmático, lo que puede disminuir su calidad de vida, incrementando el riesgo de enfermedades respiratorias agudas (infecciones) y crónicas (EPOC y fibrosis). Por lo tanto, es de interés evaluar el impacto que tiene dicha asociación en la integridad de la membrana alveolo-capilar en estos pacientes con la finalidad de realizar un diagnóstico temprano y eficaz del daño pulmonar en el binomio diabetes y obesidad.

HIPOTESIS:

La integridad de la membrana alveolo-capilar evaluada por la medición de la concentración sérica de la proteína CC16 y la difusión de monóxido de carbono (DLCO), como marcadores subrogados, será diferente en 1) sujetos con asma, diabetes y obesidad comparados con 2) sujetos con asma y obesidad, 3) con diabetes y obesidad y 4) solo con obesidad.

OBJETIVOS:

Objetivo principal:

Evaluar la integridad de la membrana alveolo-capilar mediante la medición de la concentración sérica de la proteína CC16, y la difusión de monóxido de carbono (DLCO) como marcadores subrogados en 1) sujetos con asma, diabetes y obesidad, 2) con asma y obesidad, 3) con diabetes y obesidad y 4) solo con

obesidad. Adicionalmente se incluirán 2 grupos de pacientes uno de sanos con peso normal y otro con asma con peso normal, que servirán como controles.

Objetivos específicos:

1. Medir y comparar la concentración de proteína CC16 en muestras de suero, esputo inducido y/o condensado de aire espirado (CAE) en los 6 grupos.
2. Medir y comparar entre los grupos el estado de estrés oxidativo e inflamatorio a través de la cuantificación en suero y esputo y/o CAE los siguientes indicadores:
 - Glutación peroxidasa (GPx)
 - Mieloperoxidasa (MPO)
 - Sulfidrilos totales
 - Malondialdehído (MDA)
 - Grupos carbonilo
 - Interleucina 1 β (IL-1 β)
 - Interleucina 6 (IL-6)
 - Interleucina 5 (IL-5)
 - Interleucina 8 (IL-8)
 - Interleucina 10 (IL-10)
 - Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)
 - Proteína C reactiva (CRP)
 - Proteína de las células de Club (CC16).

3. Medir y comparar entre los grupos los marcadores de disfunción endotelial: molécula de adhesión vascular celular (VCAM), intercelular (ICAM), hemo-oxigenasa 1 (HO-1), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) e inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI-1).
4. Evaluar y comparar la función pulmonar mediante espirometría con broncodilatador, óxido nítrico en aire espirado (FENO) y prueba de difusión de monóxido de carbono (DLCO) en los grupos.

VARIABLES:

1. Difusión de monóxido de carbono
2. Volumen espiratorio máximo en el primer segundo (FEV1) capacidad vital forzada (VCF)
3. Fracción espirada de óxido nítrico (FENO)
4. Condensado de aire exhalado
5. Actividad plasmática de paroxonasa (esterasa A, PON-1)
6. Actividad plasmática de superóxido dismutasa
7. Cuantificación de grupos sulfidrilos (SH)
8. Actividad enzimática total (citotóxica y microsomal) de la glutatión-S-transferasa (GST)
9. Actividad de la mieloperoxidasa en plasma
10. Gamaglutamiltransferasa (GGT)
11. Concentración de la proteína CC16
12. Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)
13. Molécula de adhesión vascular celular (VCAM)

14. Molécula de adhesión intercelular (ICAM)
15. Inhibidor del activador de plasminógeno 1
16. Citocinas e interleucinas inflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-5, IL-8 IL-10, TNF- α .

METODOLOGIA:

Tipo de estudio: Estudio transversal, comparativo y descriptivo.

Selección de sujetos de estudio: Se seleccionaron de la base de datos de la clínica de asma del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) y de la consulta externa del Departamento de Endocrinología y del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ), una vez verificados los criterios de inclusión, se realizó la invitación a participar en el estudio.

Una vez citados, se les pidió a los pacientes que acudieran al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”, INER, en el Laboratorio de Investigación en Bioquímica y Medicina Ambiental en donde se realizaron las pruebas. Los estudios se realizaron en un horario de 07:00 a 12:00 hrs. Con previa firma del consentimiento bajo información, se realizaron las siguientes pruebas en todos los grupos y se aplicaron en el mismo orden y secuencia.

- BH, QS, Perfil de Lípidos, PCR, AP-A, AP-B
- FENO
- PICO+
- Bioimpedancia
- Espirometría y Difusión de Monóxido de Carbono
- Condensado de Aire Espirado

- Radiografía de Tórax
- Espirometría PRE y POST broncodilatador
- Inducción de Expectoración

Las muestras obtenidas se procesaron en el Laboratorio de Investigación en Bioquímica y Medicina Ambiental del INER. Las muestras de sangre se obtuvieron por personal calificado en tubos vacutainer con heparina, o EDTA como anticoagulante para la obtención de plasma y con el gel separador para la obtención de suero. Determinaciones en suero/plasma: las muestras de sangre total, fueron centrifugadas a 3500 rpm por 15 minutos para separar suero/plasma. Después de dicha separación se almacenaron todas las muestras a -80°C hasta realizar las determinaciones. Las espirometrías al igual que la DLCO, fueron realizadas por personal calificado siguiendo los estándares de la ATS. El CAE se obtuvo mediante un tubo desechable de polipropileno conectado a una válvula de exhalación (Rtube, Exhaled breath condensate collector), la cual es una técnica sencilla, no invasiva y de recolección rápida que dura 15 minutos. Se le solicitó al paciente que respirara de manera normal por la boca a través de este tubo (Rtube, Exhaled breath condensate collector). Para la inducción de esputo se utilizó un nebulizador de membrana vibrante, marca Aeroneb y se realizó siguiendo la técnica propuesta por Scheicher. Previo al procedimiento, se le pidió al paciente que enjuagara su boca con agua destilada estéril. Posteriormente se realizó la espirometría basal y se aplicó un disparo de salbutamol para prevenir la broncoconstricción en los sujetos de estudio. Posteriormente se procedió a nebulizar con solución salina a una concentración de 3.5% durante 5 minutos;

pasado ese tiempo se les solicitó a los pacientes que tosieran para expectorar, si no obteníamos muestra alguna se continuaba con la nebulización pero incrementando la concentración de la solución salina a un 7%. La muestra se colectó

Criterios de inclusión:

GRUPO SANO: IMC 18.5-24.9kg/m² , sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente.

GRUPO S/O: IMC 25-34.9kg/m² , sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F. y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente.

GRUPO S/O/DM2: Diabetes Mellitus tipo 2. IMC 25-34.9kg/m² , sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F. y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente. Sin datos de insuficiencia renal TFG>60 Calculado con ecuación de Cockcroft-Gault: TFG= $(140-\text{edad}) \times \text{peso} / 72 \times \text{creatinina plasmática}$.

GRUPO A: Diagnóstico médico de asma moderada persistente a grave persistente. IMC 18.5-24.9kg/m², sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente.

GRUPO A/S/O: Diagnóstico médico de asma moderada persistente a grave persistente. IMC 25-34.9kg/m² , sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente.

GRUPO A/S/O/DM2: Diagnóstico médico de asma moderada persistente a grave persistente y Diabetes Mellitus tipo 2. IMC 25-34.9kg/m² , sin enfermedades crónico-degenerativas, ambos sexos, de 30 a 65 años, sin datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio, haber fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida, originarios y residentes del D.F. y área conurbana, consentimiento informado, firmado por el paciente o familiar responsable del paciente. Sin datos de insuficiencia renal TFG>60 Calculado con ecuación de Cockcroft-Gault: $TFG = \frac{140 - \text{edad}}{72} \times \text{peso} / \text{creatinina plasmática}$.

Criterios de exclusión:

- Fumadores.

- Datos de infección respiratoria 6 semanas previas al estudio
- Antecedentes de tuberculosis
- Tuberculosis activa
- Embarazo o lactancia
- Consumo de betabloqueadores, metildopa, derivados de xantinas o esteroides orales.
- Haber tenido una crisis asmática un mes previo al estudio.
- Tasa de filtrado glomerular < 60 ml/min, (CKD-EPI)
- Albuminuria severamente incrementada (≥ 300 mg/24 h)
- Complicaciones macrovasculares.

Criterios de eliminación:

- Que no se cuente con el 75% de las variables de interés
- Retiro del consentimiento para participar en el estudio

Estrategia de análisis estadístico:

Para analizar la distribución se usará la prueba de Shapiro-Wilk.

Las variables dimensionales se describirán como promedio \pm desviación estándar (DE) o mediana (percentiles 25-75%), según la distribución sea paramétrica o no paramétrica, respectivamente.

Las variables nominales se reportarán como frecuencias y porcentajes.

Las diferencias entre los grupos serán comparadas mediante la prueba de ANOVA de una vía o Kruskal Wallis.

Se llevará a cabo un análisis de correlación considerando la proteína (CC16) con el resto de las variables.

Análisis de regresión lineal múltiple teniendo como variable dependiente de CC16.

Tamaño de muestra:

El tamaño de la muestra fue obtenido mediante la fórmula de comparación de medias, considerando un error $\alpha = 0.05$, error $\beta = 0.20$ y un poder = 80%.

Se utilizó los resultados de las mediciones de CC16.

$$n = \frac{2S^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{\Delta^2} = 2(1.88)^2 (1.96 + 0.84)^2$$

$$\Delta^2 \quad 1$$

n= 50 sujetos.

RESULTADOS:

Características basales de la población

Las características basales de la población se muestran en la **tabla 1**. Se incluyeron un total de 57 pacientes, con una edad media de 49 años, con predominio del sexo femenino (79%). El grupo con sobrepeso/obesidad (S/O) fue el más numeroso, con 20 pacientes, seguido por el grupo de

asma/sobrepeso/obesidad (A/S/O), con 17 pacientes, en el grupo de sobrepeso/obesidad/diabetes tipo 2 (S/O/DM2) participaron 6 pacientes y en el grupo de asma/sobrepeso/obesidad/diabetes tipo 2 (A/S/O/DM2) participaron 7 pacientes. En el grupo de sano (S) la mediana de edad fue 57.5 años, en el grupo de sobrepeso/obesidad (S/O) la mediana de edad fue de 48.5 años, en el grupo de sobrepeso/obesidad/diabetes tipo 2 (S/O/DM2) fue de 50 años, en el grupo de asma (A) fue de 48 años, en el grupo de asma/sobrepeso/obesidad (A/S/O) fue de 44 años y en el grupo de asma/sobrepeso/obesidad/diabetes tipo 2 (AS/O/DM2) fue de 62 años, en todos los grupos predominó el sexo femenino (75%, 75%, 67%, 100%, 76% y 100% respectivamente). Como era de esperarse se encontró diferencias significativas en medidas antropométricas tales como peso corporal, índice de masa corporal (IMC), circunferencia de cintura y circunferencia de cuello, así como también, en los parámetros de la bioimpedancia eléctrica, que incluyó porcentaje de masa grasa, masa magra (libre de grasa) y en el contenido total de agua corporal.

Tabla 1

	Sano (n=4)	S/O (n=20)	S/O/DM2 (n=6)	A (n=3)	A/S/O (n=17)	A/S/O/DM2 (n=7)	p (Kruskal - Wallis)
Edad (Años)	57.5 IIQ (52-59)	48.5 IIQ (43.5-53)	50 IIQ (46-53)	48 IIQ (46.5-55.5)	44 IIQ (39-49)	62 IIQ (51-64)	0.027
Sexo (M/H)	3/1	15/5	4/2	3/0	13/4	7/0	0.633
Peso (Kg)	57.27 IIQ (53-64.6)	77 IIQ (74.15-83.42)	87.75 IIQ (72.75-92.70)	59.35 IIQ (51.82-61)	77.9 IIQ (72.45-84.65)	72.3 IIQ (63-80.7)	0.003
Talla (cm)	153 IIQ (148.5-160.5)	157 IIQ (151.5-165)	165 IIQ (157-173)	158 IIQ (152-158.5)	160 IIQ (155-161)	153 IIQ (151.5-157.5)	0.224

IMC (Kg/m²)	24.57 IIQ (24.02-25.02)	30.88 IIQ (28.80-35.75)	32.18 IIQ (29.33-33.22)	23.77 IIQ (22.27-24.27)	32.92 IIQ (27.77-35.23)	31.78 IIQ (27.45-33.30)	0.003
Cintura (cm)	78 IIQ (74.5-84)	98 IIQ (91.75-102.5)	104.9 IIQ (100-112)	80 IIQ (78.5-82.5)	100 IIQ (91-107)	96 IIQ (92-103.5)	0.003
Cuello (cm)	33.5 IIQ (31.25-36.25)	37 IIQ (35.25-39)	36.5 IIQ (35-42)	33 IIQ (30-33.5)	39 IIQ (35.5-44)	37 IIQ (35.5-40)	0.043
Índice C/E (cm/cm)	0.52 IIQ (0.50-0.52)	0.59 IIQ (0.56-0.67)	0.65 IIQ (0.61-0.66)	0.52 IIQ (0.51-0.53)	0.63 IIQ (0.57-0.69)	0.64 IIQ (0.60-0.66)	0.005
MG (Kg)	20.72 IIQ (18.05-23.79)	34.03 IIQ (25.87-38.92)	32.87 IIQ (32.28-40.27)	18.87 IIQ (18.62-20.65)	34.92 IIQ (27.71-36.52)	35.36 IIQ (25.31-39.42)	0.013
MG (%)	39.05 IIQ (31.1-41.5)	44.95 IIQ (36.4-48.5)	44.85 IIQ (36.8-45.9)	35.6 IIQ (33.3-39.10)	43.10 IIQ (37.7-45.9)	44.9 IIQ (40-49.1)	0.330
MM (Kg)	33.48 IIQ (32.21-43.54)	41.08 IIQ (39.95-48.08)	50.36 IIQ (39.78-55.52)	40.15 IIQ (32.79-40.56)	43.08 IIQ (42.69-48.23)	39 IIQ (37.69-43.03)	0.027
MM (%)	60.95 IIQ (58.5-68.9)	55.05 IIQ (51.5-63.6)	55.15 IIQ (54.1-63.2)	64.1 IIQ (60.75-66.55)	58.4 IIQ (54.1-62.3)	55.1 IIQ (50.9-59.95)	0.331
ACT (%)	45.55 IIQ (43.9-50.5)	40.7 IIQ (38.25-47.05)	41.05 IIQ (40.4-45.7)	47.4 IIQ (44.9-49.3)	42.6 IIQ (40.1-46.6)	40.6 IIQ (38.45-44.1)	0.380
IIQ: Rango intercuartil. M/H: Mujer/Hombre. IMC: Índice de masa corporal. Índice C/E: Índice cintura/estatura. MG: Masa grasa. MM: Masa magra. ACT: Agua corporal total.							

Resultados de laboratorios:

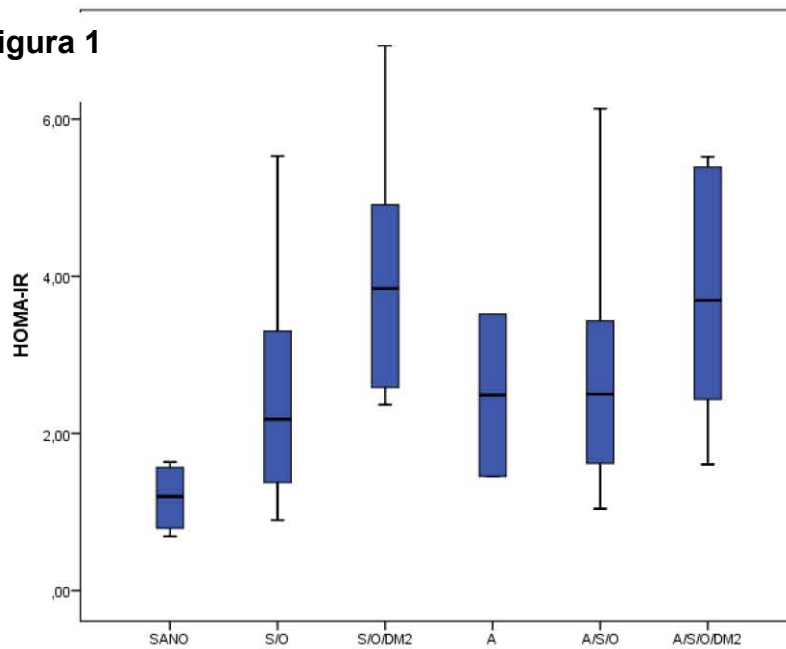
En la **tabla 2** se muestran los resultados de laboratorio del perfil de lípidos, química sanguínea y HOMA-IR (Homeostatic model assessment), de 57 pacientes, como se suponía, los grupos con diabetes (S/O/DM2 y A/S/O/DM2) comparado con los grupos sin diabetes (SANO, S/O, A, A/S/O) tuvieron concentraciones sanguíneas de glucosa y hemoglobina glicada más altas, sin encontrarse otras diferencias significativas en el resto de la química sanguínea, no obstante, aunque no fue estadísticamente significativo, la resistencia a la insulina valorada por HOMA-IR es mayor en los grupos con asma (A, A/S/O, A/S/O/DM2) comparado con el grupo de sano y S/O (**Figura 1**).

Tabla 2

	Sano (n=4)	S/O (n=20)	S/O/DM2 (n=6)	A (n=3)	A/S/O (n=17)	A/S/O/DM2 (n=7)	p (Kruskal - Wallis)
Perfil de lípidos							
Tg (mg/dL)	172 IIQ (155-183)	171.5 IIQ (121-229.5)	239.5 IIQ (157-285)	94 IIQ (79.5-147.5)	157 IIQ (129-261)	212 IIQ (117-280)	0.520
CT (mg/dL)	281 IIQ (248-294.5)	192.5 IIQ (172.5-217.5)	259.5 IIQ (201-285)	191 IIQ (183-196.5)	209 IIQ (190-225)	172 IIQ (151-172)	0.015
HDL (mg/dL)	51 IIQ (46-65)	39 IIQ (36-44.5)	34.5 IIQ (34-53)	54 IIQ (44-76)	40 IIQ (37-46)	49 IIQ (36-52)	0.252
LDL (mg/dL)	172.5 IIQ (156-184)	121 IIQ (103-137.5)	154 IIQ (127-169)	102 IIQ (91-111.5)	130 IIQ (113-138)	99 IIQ (80-136.5)	0.015
NO-HDL (mg/dL)	216 IIQ (197-234.5)	156.5 IIQ (132.5-168)	217 IIQ (167-231)	137 IIQ (120.5-139)	158 IIQ (150-179)	136 IIQ (109-165)	0.005
Apo-B (mg/dL)	122 IIQ (112-134)	94.45 IIQ (87.6-123)	144 IIQ (104-173)	78 IIQ (72-89.5)	111 IIQ (94.5-126)	87 IIQ (74.25-112.25)	0.074
Apo-A (mg/dL)	156.5 IIQ (134-182)	132.5 IIQ (117.5-154)	115.5 IIQ (106-163)	148 IIQ (137-184)	138 IIQ (119-146)	154 IIQ (124.5-163.5)	0.384
Química sanguínea							
Glucosa (mg/dL)	95.5 IIQ (92.5-98)	95 IIQ (92.5-99.5)	131.5 IIQ (113-160)	95 IIQ (86.5-97)	97 IIQ (91-99.5)	125 IIQ (102-154.5)	0.001
BUN (mg/dL)	13 IIQ (12-14.5)	11 IIQ (10-14)	11.5 IIQ (11-15)	10 IIQ (9-11)	12.5 IIQ (10-13.5)	13 IIQ (11.5-15.5)	0.419
Creatinina (mg/dL)	0.82 IIQ (0.74-1.05)	0.68 IIQ (0.65-0.82)	0.82 IIQ (0.73-0.92)	0.66 IIQ (0.62-0.79)	0.76 IIQ (0.65-0.87)	0.75 IIQ (0.67-0.89)	0.489
HbA_{1c} (%)	5.45 IIQ (5.4-5.7)	5.7 IIQ (5.4-5.95)	7.25 IIQ (6.5-8)	5.3 IIQ (5.3-5.5)	5.5 IIQ (5.2-5.6)	6.6 IIQ (6.4-7.75)	0.000
Acido úrico (mg/dL)	4.79 IIQ (4.24-6.34)	4.89 IIQ (4.41-6.01)	6.01 (IIQ 4.13-6.15)	5.25 IIQ (4.83-5.45)	5.29 IIQ (4.67-6.83)	5.51 IIQ (5.11-5.75)	0.876

Insulina (uU/mL)	4.95 IIQ (3.15-6.7)	9.10 IIQ (5.95-14.2)	13.9 (IIQ 7.2-17.6)	10.3 IIQ (6.2-14.4)	9.9 IIQ (8.25-13.1)	10.6 IIQ (8.8-15.7)	0.167
HOMA-IR	1.19 IIQ (0.79-1.56)	2.18 IIQ (1.37-3.3)	3.84 (IIQ 2.58-4.91)	2.48 IIQ (1.45-3.52)	2.50 IIQ (1.62-3.43)	3.69 IIQ (2.43-5.38)	0.051
IIQ: Rango intercuartil. HOMA-IR: Homeostatic model assessment							

Figura 1



Marcadores de inflamación sistémica:

En la **tabla 3** se muestran los resultados que se obtuvieron en 57 pacientes, de los marcadores de inflamación sistémica tradicionales, lo cual comprende elementos de la biometría hemática (leucocitos, hemoglobina y plaquetas) y la concentración la proteína de fase aguda proteína C reactiva (PCR). Encontrando que el grupo de sanos tiene el menor contaje de neutrófilos en relación al resto de grupos, al comparar los grupos de S/O y A/S/O con los grupos respectivos pero con diabetes, existe una tendencia al incrementó de los neutrófilos (**Figura 2**). Igualmente se puede observar que los grupos sano y con S/O tienen un recuento de eosinófilos más bajos si se compara con los otros grupos, existiendo mayor eosinofilia en el grupo de A/S/O/DM2 (**Figura 3**). Pese a que no fue significativo, la proteína C reactiva (PCR), también fue más elevada en el grupo de A/S/O/DM2 (**Figura 4**).

Tabla 3

	Sano (n=4)	S/O (n=20)	S/O/DM2 (n=6)	A (n=3)	A/S/O (n=17)	A/S/O/DM2 (n=7)	p (Kruskal - Wallis)
Leucocitos#	4.7 IIQ (3.95- 6)	6.3 IIQ (5.75- 7.2)	6.2 IIQ (6.2- 8.6)	7.8 IIQ (6.8- 9.4)	6.6 IIQ (4.6- 7.9)	7.8 IIQ (6.95-9)	0.073
Neutrofilos#	2.4 IIQ (1.75- 3.25)	3.8 IIQ (2.8- 4.3)	3.98 IIQ (3.4- 5.7)	5.61 IIQ (4.65- 6.2)	3.3 IIQ (2.7- 4.8)	5.0 IIQ (3.7- 5.35)	0.039
Linfocitos#	1.85 IIQ (1.65- 2.05)	2.3 IIQ (1.8- 2.55)	2.0 IIQ (1.9- 2.9)	1.5 IIQ (1.46- 2.1)	1.8 IIQ (1.5- 2.2)	2.2 IIQ (2.1-2.4)	0.334
Monocitos #	0.30 IIQ (0.3- 0.4)	0.40 IIQ (0.4- 0.5)	0.40 IIQ (0.32- 0.5)	0.73 IIQ (0.56- 0.86)	0.40 IIQ (0.37- 0.6)	0.40 IIQ (0.4- 0.41)	0.264
Eosinofilos#	0.15 IIQ (0.1- 0.36)	0.10 IIQ (0.1- 0.2)	0.17 IIQ (0.1- 0.5)	0.20 IIQ (0.11- 0.3)	0.30 IIQ (0.2- 0.4)	0.44 IIQ (0.3- 0.85)	0.016
Hb (g/dL)	14.8	14.75	14	14.5	13.9	14.3	0.609

	IIQ (14-15.4)	IIQ (13.7-15.45)	IIQ (13.3-14.3)	IIQ (13.9-14.6)	IIQ (13.4-15.4)	IIQ (12.9-14.7)	
Plaquetas #	249.5 IIQ (172.5-304.5)	222 IIQ (185-298)	249 IIQ (238-274)	243 IIQ (230.5-260)	234 IIQ (188-263)	283 IIQ (238-346)	0.541
PCR mg/dL	0.168 IIQ (0.049-0.296)	0.290 IIQ (0.112-0.502)	0.490 IIQ (0.168-0.818)	0.116 IIQ (0.095-0.484)	0.344 IIQ (0.157-0.598)	0.516 IIQ (0.398-0.949)	0.298
IIQ: Rango intercuartil. Hb: Hemoglobina. PCR: Proteína C reactiva. #: número total 10 ³ /mm ³							

Figura 2

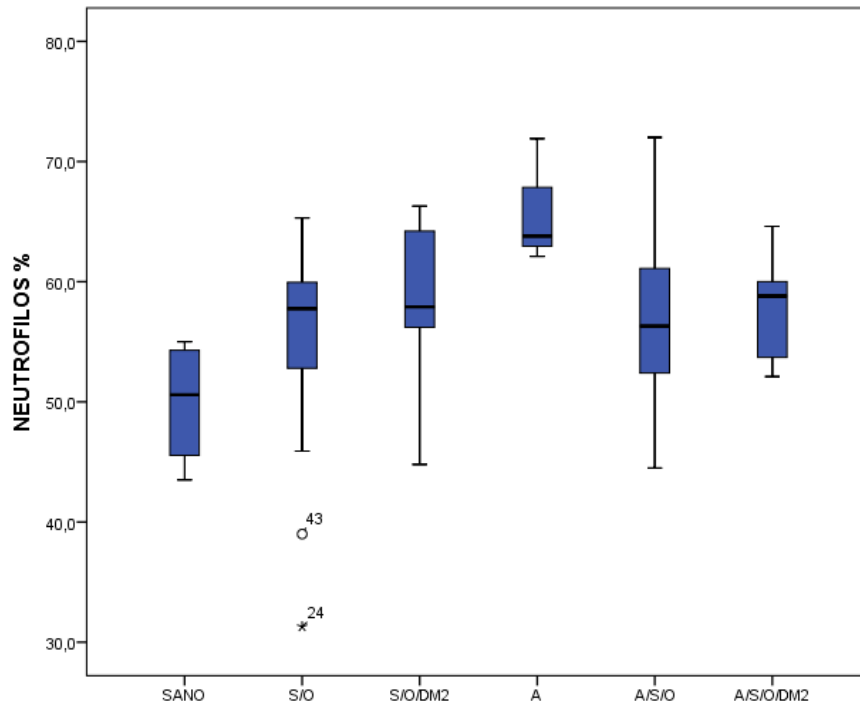


Figura 3

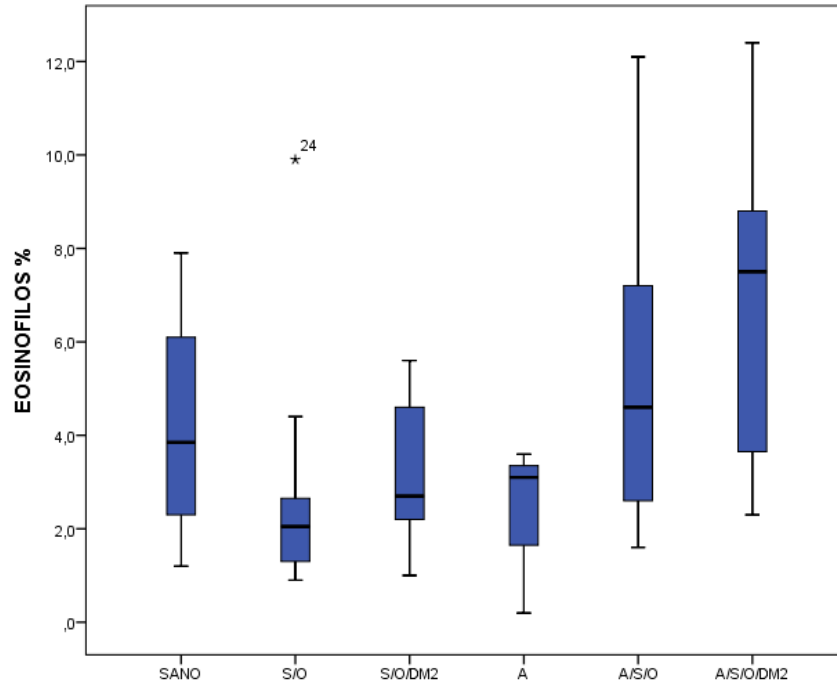
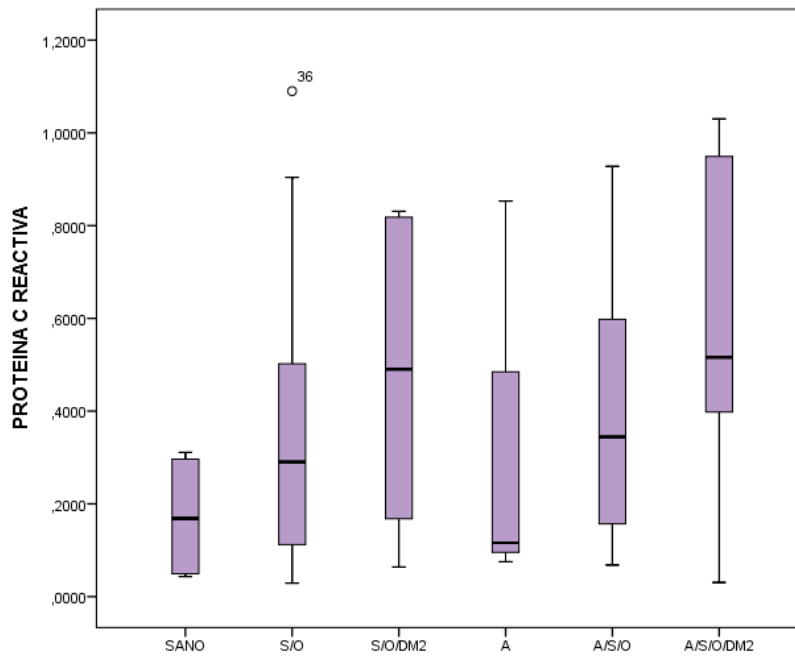


Figura 4



En la **tabla 4** se muestran los resultados que se obtuvieron de 27 pacientes, de la concentración de interleucinas en muestra de expectoración, solo se observó diferencia significativa en el valor de interleucina 8 (IL-8), estando más

incrementada en el grupo A/S/O (**Figura 5**). En la **tabla 5** se presentan los resultados de 24 pacientes, de las interleucinas en condensado de aire expirado (CAE), encontrándose solo diferencia significativa en los niveles de interleucina 1 β (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6), siendo ambas más altas en pacientes del grupo A/S/O/DM2. En la **tabla 6** se indican los resultados de 19 pacientes, en interleucinas encontradas en suero, donde se indican diferencias significativas en las cantidad de interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8) e interleucina 10 (IL-10), siendo más elevadas una vez más en el grupo A/S/O/DM2.

Tabla 4

	A (n=3)	S-O (n=13)	A/S-O (n=8)	A/S-O/DMII (n=3)	Valor de P
IL-1 β /E	7.2 \pm 2.1 (IC:-11.6-26.1)	11.42 \pm 10.8 (IC:4.2-18.7)	11.02 \pm 7.4 (IC:4.2-17.8)	10.7 \pm 13 (IC:-106-127.4)	0.9199
IL-4/E	0.2 \pm 0.1 (IC:0.1-0.3)	0.2 \pm 0 (IC:0.1-0.2)	0.3 \pm 0.2 (IC:0.1-0.4)	0.2 \pm 0.2 (IC:-0.3-0.8)	0.6803
IL-5/E	0.9 \pm 0.9 (IC:0.4-1.5)	0.9 \pm 0.4 (IC:-0.1-1.9)	2 \pm 3.7 (IC:-1-5.1)	0.5 \pm 0.3 (IC:-0.2-1.2)	0.7401
IL-6/E	1.6 \pm 1.5 (IC:0.6-2.5)	1.2 \pm 1 (IC:-1.4-3.7)	1.6 \pm 1 (IC:0.7-2.4)	0.6 \pm 0.5 (IC:-0.7-1.9)	0.5828
IL-8/E	61.8 \pm 18.1 (IC:-101.1-224.8)	63.1 \pm 56.3 (IC:22.9-103.4)	178.6 \pm 74.5 (IC:121.3-235.9)	108.4 \pm 90.8 (IC:-117-333.9)	0.0209
IL-13/E	1.8 \pm 0.9 (IC:1.2-2.3)	2.2 \pm 0.6 (IC:0.7-3.7)	2.6 \pm 1.8 (IC:1.2-4.1)	2.2 \pm 0.4 (IC:1.1-3.3)	0.8433
IL-10/E	5.9 \pm 3.3 (IC:3.9-7.9)	11.3 \pm 3.8 (IC:1.9-20.6)	9.2 \pm 7.3 (IC:3.2-15.3)	11.1 \pm 13.4 (IC:-22.1-44.4)	0.3560
TNF- α /E	8.3 \pm 4.2 (IC:5.8-10.8)	4.9 \pm 0.6 (IC:3.5-6.4)	10 \pm 8.2 (IC:3.2-16.9)	16.2 \pm 23.5 (IC:-42.1-74.5)	0.6747
IL: Interleucina, TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa.					

Figura 5

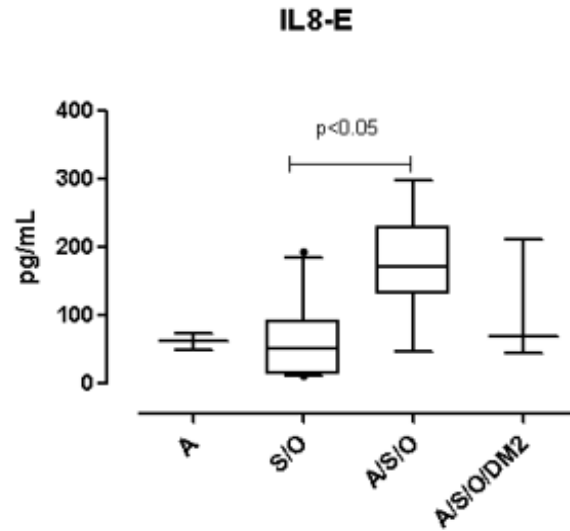


Tabla 5

	A (n=3)	S-O (n=15)	A/S-O (n=5)	A/S-O/DMII (n=1)	Valor de P
IL-1 β /CAE	0.2 \pm 0.1 (IC:0.2-0.3)	0.2 \pm 0.1 (IC:0-0.4)	0.2 \pm 0 (IC:0.1-0.3)	0.5 \pm 0	0.0246
IL-4/CAE	0.2 \pm 0.1 (IC:0.2-0.3)	0.3 \pm 0.1 (IC:0.1-0.5)	0.3 \pm 0.1 (IC:0.2-0.4)	0.2 \pm 0	0.3757
IL-5/CAE	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
IL-6/CAE	0.3 \pm 0.1 (IC:0.3-0.3)	0.4 \pm 0 (IC:0.3-0.5)	0.3 \pm 0.1 (IC:0.2-0.4)	0.4 \pm 0	0.0156
IL-8/CAE	0.1 \pm 0.1 (IC:0-0.1)	ND*	0.1 \pm 0.2 (IC:-0.1-0.3)	ND*	0.8087
IL-13/CAE	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
IL-10/CAE	0.7 \pm 0.5 (IC:0.5-1)	1.8 \pm 2.3 (IC:-3.9-7.5)	0.5 \pm 0.1 (IC:0.3-0.7)	0.8 \pm 0	0.2022
TNF α /CAE	2.9 \pm 1.4 (IC:2.2-3.7)	2.7 \pm 0.5 (IC:1.5-3.8)	3.2 \pm 1.1 (IC:1.8-4.6)	2.4 \pm 0	0.9164

IL: Interleucina, **TNF α :** Factor de necrosis tumoral alfa. **CAE:** Condensado de aire espirado. **ND*:** No detectado.

Tabla 6

	A (n=3)	S-O (n=10)	A/S-O (n=5)	A/S-O/DMII (n=1)	Valor de P
IL-1 β /SUE	0.5 \pm 0.4 (IC:0.2-0.8)	0.3 \pm 0.1 (IC:0-0.7)	0.2 \pm 0.1 (IC:0.1-0.4)	0.6	0.4945
IL-4/SUE	0.6 \pm 0.2 (IC:0.4-0.7)	0.4 \pm 0.1 (IC:0.1-0.7)	0.4 \pm 0.2 (IC:0.2-0.6)	0.8	0.0741
IL-5/SUE	1.9 \pm 1.6 (IC:0.8-3)	0.8 \pm 1 (IC:-1.7-3.3)	1.1 \pm 1 (IC:0-2.2)	0.2	0.4209
IL-6/SUE	0.8 \pm 0.5 (IC:0.5-1.2)	0.3 \pm 0.3 (IC:-0.3-1)	0.3 \pm 0.2 (IC:0.1-0.6)	1.5	0.0355
IL-8/SUE	1.1 \pm 0.5 (IC:0.7-1.4)	0.5 \pm 0.3 (IC:-0.2-1.3)	0.6 \pm 0.5 (IC:0.1-1.1)	2	0.0460
IL-13/SUE	0.4 \pm 0.5 (IC:0-0.7)	0.04 \pm 0.1 (IC:-0.1-0.2)	0.1 \pm 0.1 (IC:-0.1-0.2)	1.7	0.0092
TNF α /SUE	1.6 \pm 2.6 (IC:-0.3-3.4)	0.3 \pm 2.3 (IC:-0.4-1)	0.2 \pm 0.2 (IC:0-0.5)	3.2	0.3599
IL-10/SUE	0.8 \pm 1.1 (IC:0-1.5)	ND*	0.2 \pm 0.3 (IC:-0.2-0.5)	0.8	0.4314
IL: Interleucina, TNFα: Factor de necrosis tumoral alfa. ND*: No detectado.					

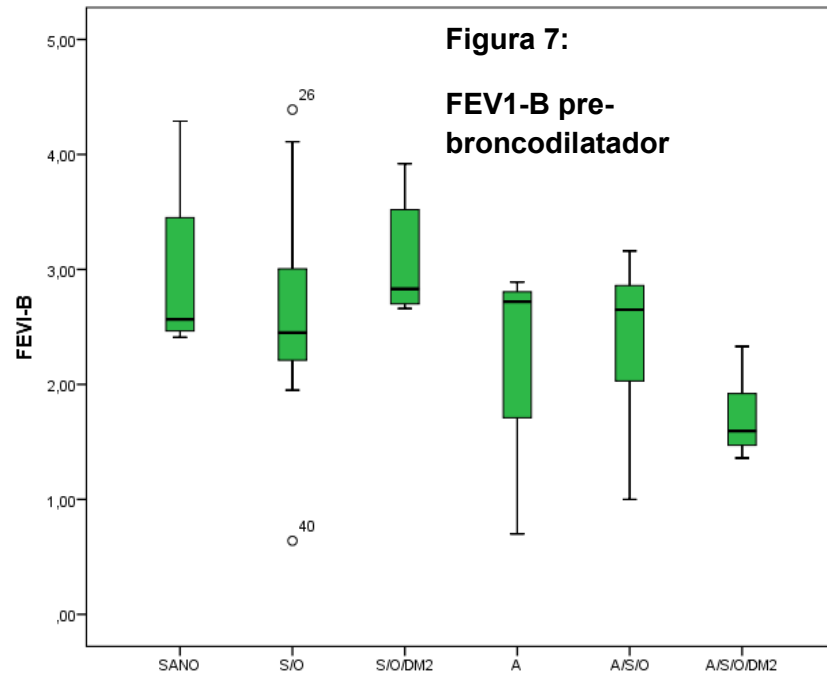
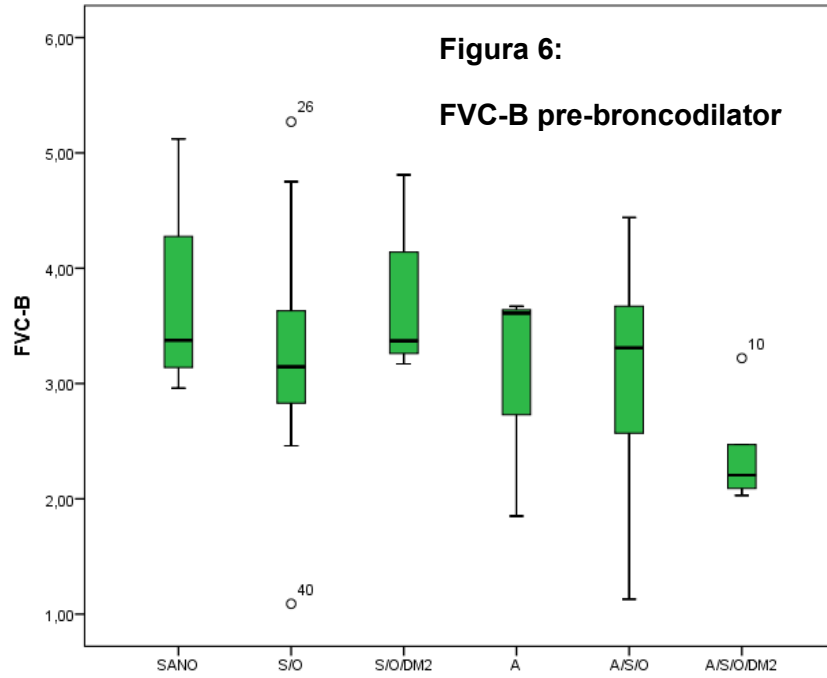
Pruebas de función respiratoria:

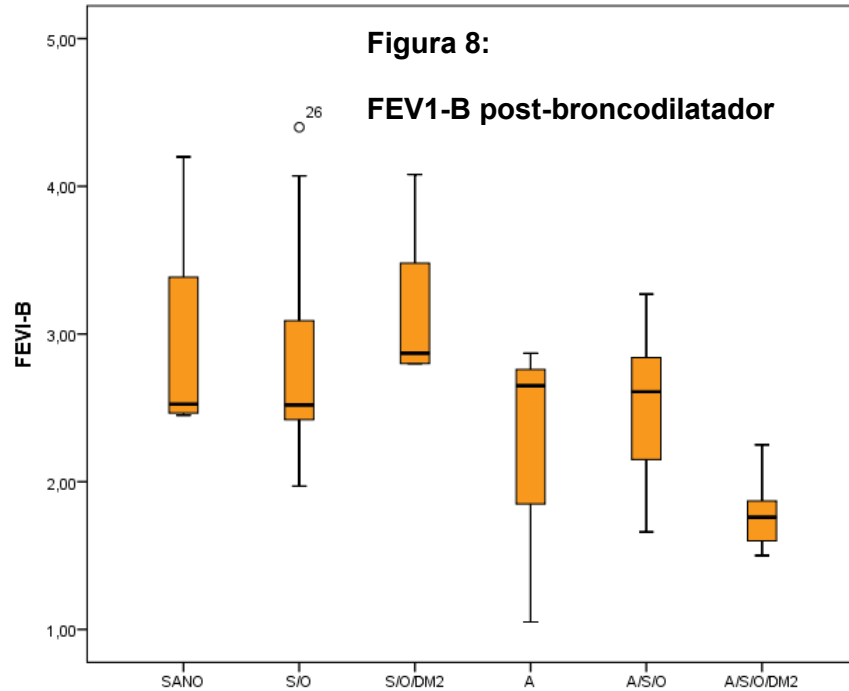
En la **tabla 7**, se muestran los parámetros que nos permiten evaluar la función respiratoria, en los 57 pacientes, no se encontraron diferencias significativas en la pruebas de FENO (fracción espirada de óxido nítrico), ni en la difusión de monóxido de carbono (DLCO). En la espirometría pre y post broncodilatador si se observan diferencias estadísticamente significativas, existiendo una tendencia al

deterioro de la capacidad vital forzada (FVC) y volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1) conforme se suman más comorbilidades. (Figura 6, 7 y 8)

Tabla 7

	Sano (n=4)	S/O (n=20)	S/O/DM2 (n=6)	A (n=3)	A/S/O (n=17)	A/S/O/DM2 (n=7)	p (Kruskal - Wallis)
FENO (ppb)	6.5 IIQ (4.5- 8.5)	15.16 IIQ (6.33- 34.33)	13 IIQ (8.33- 16.66)	37.33 IIQ (28- 37.66)	16 IIQ (6- 20.66)	20.33 IIQ (14.5- 25.66)	0.226
DLCO-%	130 IIQ (119.5- 139.5)	124.5 IIQ (114- 130)	121.5 IIQ (105- 127)	117 IIQ (99- 134)	125 IIQ (118.5- 139)	114 IIQ (103.5- 118.5)	0.498
Diadj-%	114.5 IIQ (105.5- 123.5)	110.5 IIQ (101- 115.5)	107.5 IIQ (92- 112)	103 IIQ (87.5- 118)	111 IIQ (104.5- 122.5)	101 IIQ (91.5- 104.5)	0.461
Espirometría pre-broncodilatador							
FVC-B	3.37 IIQ (3.14- 4.27)	3.14 IIQ (2.83- 3.63)	3.37 IIQ (3.26- 4.14)	3.61 IIQ (2.73- 3.64)	3.05 IIQ (2.5- 3.79)	2.2 IIQ (2.09- 2.47)	0.009
FEVI-B	2.56 IIQ (2.46- 3.45)	2.45 IIQ (2.21- 3)	2.83 IIQ (2.7- 3.52)	2.72 IIQ (1.71- 2.8)	2.54 IIQ (1.81- 2.91)	1.59 IIQ (1.47- 1.92)	0.038
Espirometría post-broncodilatador							
FVC-B	3.25 IIQ (3.05- 4.14)	2.99 IIQ (2.79- 3.74)	3.35 IIQ (3.25- 4.08)	3.56 IIQ (2.91- 3.57)	3.21 IIQ (2.83- 3.71)	2.27 IIQ (2.12- 2.46)	0.014
FEVI-B	2.52 IIQ (2.46- 3.38)	2.52 IIQ (2.42- 3.09)	2.87 IIQ (2.8- 3.48)	2.65 IIQ (1.85- 2.76)	2.61 IIQ (2.15- 2.84)	1.76 IIQ (1.6- 1.87)	0.004
<p>FENO: Fracción espirada de óxido nítrico. DLCO: Difusión de monóxido de carbono. Diadj: Difusión de CO ajustado para la edad, peso y género. FVC: Capacidad vital forzada. FEV1: Volumen espiratorio forzado en 1° segundo.</p>							





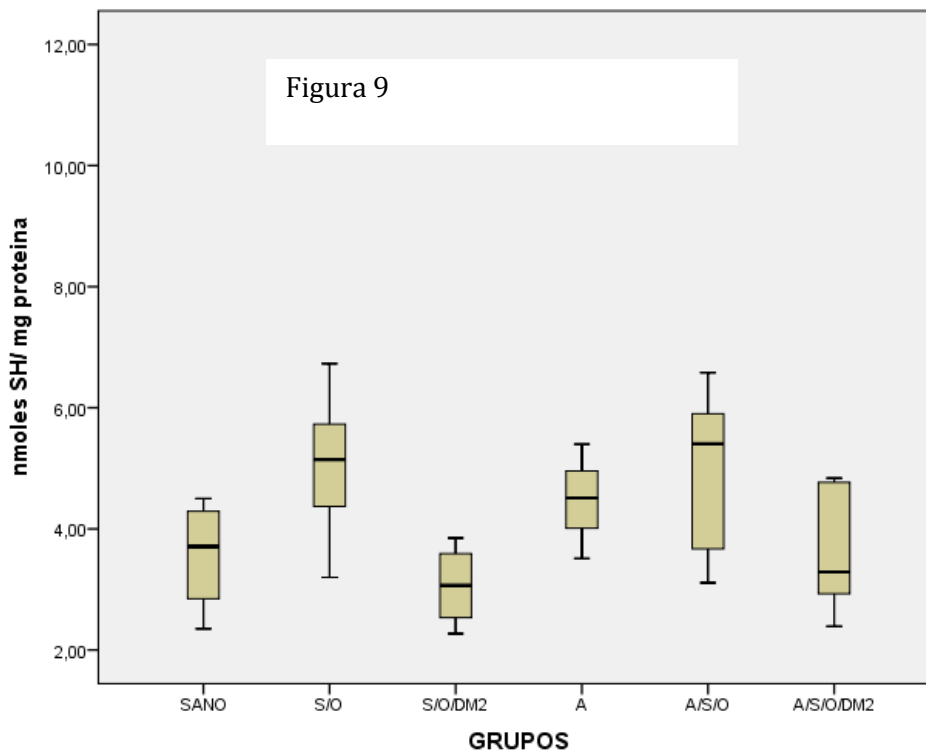
Marcadores de estrés oxidativo:

En la tabla 8, se muestran los marcadores de estrés oxidativo, de 50 pacientes. Se evidencia diferencia significativa en la concentración de grupos SHT (sulfidrilos totales), siendo más elevada en el grupo de S/O y A/S/O (Figura 9).

Tabla 8

	Sano (n=4)	S/O (n=18)	S/O/DM2 (n=4)	A (n=3)	A/S/O (n=14)	A/S/O/DM2 (n=5)	p (Kruskal - Wallis)
Carbonilos (nmol/ozonas/mg prot)	0.947 IIQ (0.86-1.06)	0.942 IIQ (0.63-1.22)	0.875 IIQ (0.48-0.94)	0.886 IIQ (0.86-0.91)	1.273 IIQ (0.92-1.46)	1.290 IIQ (0.85-1-36)	0.196
MDA (uM)	2.97 IIQ (2.29-3.54)	3.64 IIQ (2.72-4.79)	3.86 IIQ (3.72-4.54)	3.15 IIQ (2.61-3.25)	4.14 IIQ (2.96-5.58)	5.08 IIQ (2.29-5.58)	0.418

GRUPOS SHT (nmoles/mg)	3.71 IIQ (2.84-4.29)	5.14 IIQ (4.37-5.73)	3.33 IIQ (3.06-3.59)	4.51 IIQ (4.01-4.95)	5.40 IIQ (3.67-5.9)	3.29 IIQ (2.93-4.77)	0.014
LPO (mmol/mL)	2.73 IIQ (2.47-2.76)	1.89 IIQ (1.68-2.22)	1.84 IIQ (1.3-1.98)	1.85 IIQ (1.8-1.91)	1.91 IIQ (1.76-2.19)	1.89 IIQ (1.88-2.27)	0.106
GPX (pmoles/ mg)	0.0001 IIQ (0.0001-0.0002)	0.0001 IIQ (0.0001-0.0002)	0.0002 IIQ (0.0002-0.0003)	0.0002 IIQ (0.0002-0.0010)	0.0001 IIQ IIQ (0.0000-0.0002)	0.0001 IIQ (0.0001-0.0002)	0.361
GRUPOS SHT: Sulfidrilos totales. GPX: : Glutación peroxidasa (GPx). MDA: Malondialdehído. LPO: Lipohidroperóxido							

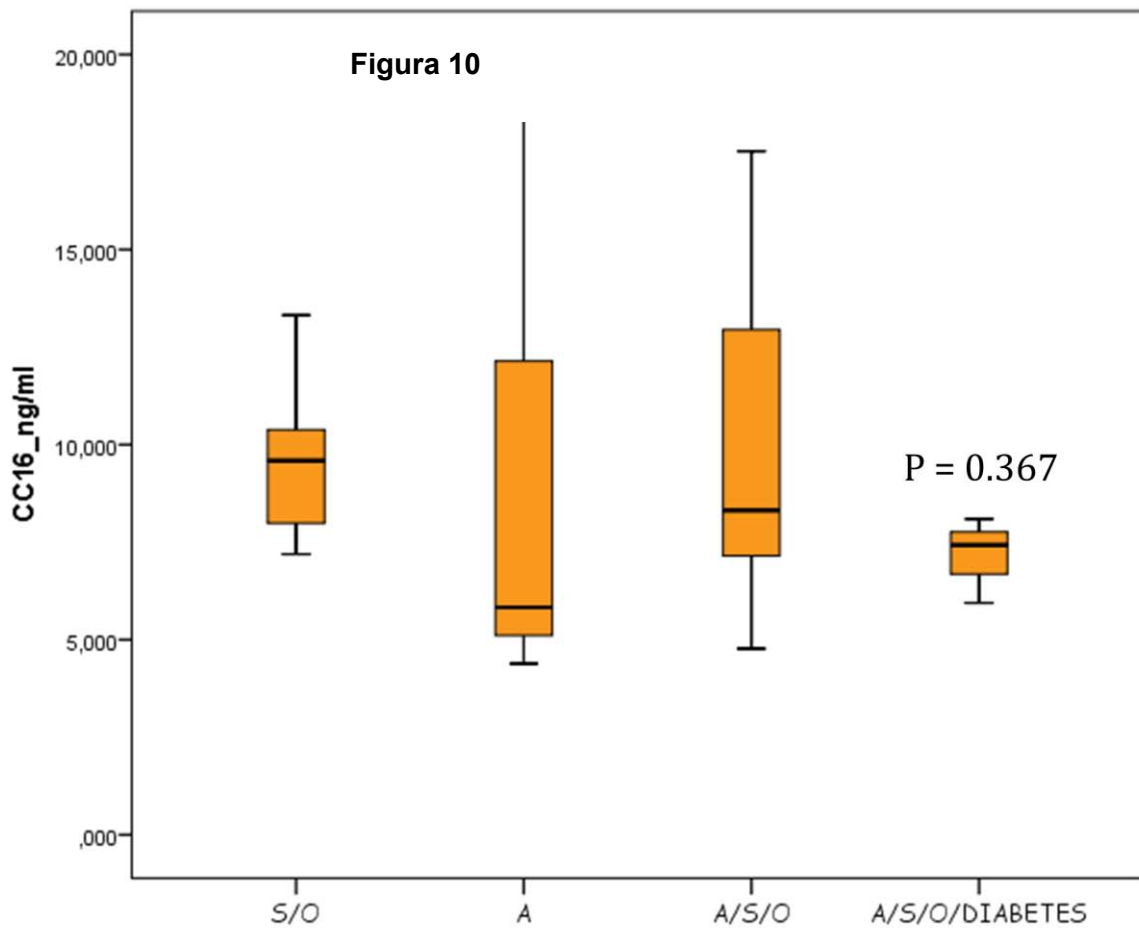


Concentración de proteína CC-16:

En la **tabla 9** y **figura 10**, se muestran los resultados de 32 pacientes, de la concentración de proteína de células de club (CC-16), como marcador subrogado de la integridad de la membrana alveolo-capilar, sin observarse, una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Tabla 9

	S/O (n=15)	A (n=3)	A/S/O (n=11)	A/S/O/DIABETES (n=3)	Valor de p
CC-16 ng/mL	9.58 IIQ (7.80-10.80)	5.83 IIQ (4.38-12.14)	8.31 IIQ (6.79-13.36)	7.42 IIQ (5.94-7.76)	0.367



DISCUSIÓN

En los últimos 30 años, se ha enfatizado el estudio de los posibles mecanismos que expliquen la relación entre sobrepeso/obesidad y asma, de tal manera, que ha adquirido importancia procesos fisiológicos que incluyen la respuesta a la insulina,

hiperglucemia crónica, metabolismo de lípidos, además de la función endotelial, las respuestas inflamatorias y la señalización de citocinas.

En estudios previos, Al-shawwa BA y colaboradores, han mostrado que existen indicios de que la resistencia a la insulina es 1.5 veces mayor en niños y adultos obesos con asma comparados con los obesos sin asma, así como, se observó una tendencia hacia una resistencia a la insulina más alta entre pacientes con asma comparados con pacientes sin asma en diferentes razas.

Analizando los resultados, podemos ver en efecto que los pacientes en los grupos de S/O, S/O/DM2, A, A/S/O y A/S/O/DM2 tiene índices de resistencia a la insulina medida por HOMA-IR más altos si se comparan con los pacientes sanos, lo cual confirma observaciones previas.

Así mismo, McKeever TM y colaboradores, reportaron que la diabetes y resistencia a la insulina están asociadas con disminución de la función pulmonar, valorada por FEV1 (volumen espiratorio forzado en 1 segundo). En nuestro trabajo corroboramos el hallazgo de que la diabetes está asociada con deterioro de la función pulmonar, al encontrar que tanto los volúmenes pulmonares estáticos (Capacidad vital forzada: FVC) como los volúmenes pulmonares dinámicos y flujos forzados (Volumen espiratorio forzado en el 1er segundo: FEV1; FEV1/FVC), son significativamente menores en el trinomio de asma, sobrepeso/obesidad, diabetes tipo 2 (A/S/O/diabetes) comparado con el resto de grupos.

El volumen espirado máximo en el primer segundo nos orienta a cerca del calibre de la luz bronquial que tiene el paciente en estudio. Esta luz puede estar

disminuida en pacientes asmáticos descontrolados pero también en pacientes que tienen un proceso inflamatorio crónico. La reversibilidad marcada que se observa en los pacientes con asma-sobrepeso/obesidad nos habla de que existe un proceso inflamatorio y además de estar en asmáticos también se observa en pacientes con sobrepeso/obesidad y esta mejora gracias al broncodilatador. El broncodilatador es un agonista de los receptores β_2 adrenérgicos pulmonares que relajan los músculos lisos de las vías aéreas desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales, actuando como antagonistas funcionales y protegiendo contra cualquier agente broncoconstrictor, también inhiben la liberación de mediadores de los mastocitos en las vías aéreas y la liberación de acetilcolina de las terminales nerviosas colinérgicas de las vías aéreas. En el CAE si se demostraron relaciones significativas. En cuanto a la interleucina- 1β ($P=0.0246$), existió diferencia entre los tres primeros grupos y el GIV de asma-sobrepeso/obesidad-DM2. Sin embargo, con este resultado no se puede establecer diferencia ya que la n del GIV es de un paciente. Pero si se puede decir que existe una tendencia a la significancia en este grupo de DM2. La interleucina 1β es liberada por macrófagos, monocitos y células dendríticas en respuesta al $TNF\alpha$. Es una citocina proinflamatoria que puede causar vasodilatación por medio de liberación de óxido nítrico y signos de inflamación localizada. Su valor normal establecido por algunas bibliografías se encuentra entre 0-15 pg/ml, en estos casos todos los resultados se encontraron en ese rango. Sin embargo pudimos observar diferencia entre los grupos principalmente asociado al grupo de asma-obesidad-DMII en donde el valor de la interleucina se encuentra a más de 0.4pg/ml el cual rebasa de mucho los valores encontrados en los otros tres grupos

establecidos. Este resultado nos puede hablar de una mayor actividad de la misma en pacientes con diabetes. La IL-6 también mostró mayor elevación en el GII (0.4 ± 0) y GIV (0.4 ± 0) que en el GI (0.3 ± 0.1) y GIII (0.3 ± 0.1). Se ha reportado en la bibliografía que esta es estimulada por la acción de la IL-1 β y el TNF- α lo cual, explicaría su elevación en el mismo grupo de asma-sobrepeso/obesidad-DM2. En cuanto a las muestras de suero, la interleucina 8 se muestra en niveles mucho más elevados en los otros GII (sobrepeso/obesidad) y GIII (asma-sobrepeso/obesidad) que en los GI (asma) y GIV (asma-sobrepeso/obesidad-DM2). Esta interleucina tiene propiedades proinflamatorias y se sintetiza en los fibroblastos, célula endotelial, monocito y macrófagos y la célula dendrítica. También sirve como factor quimiotáctico de neutrófilos y regula la producción de proteínas de adhesión y la formación de lípidos bioactivos además de que amplifica la respuesta inflamatoria local. No interviene con acción de la IL-5 ni con los eosinófilos, de aquí lo que explicaría su cifra menor en pacientes con asma. La IL-13 en suero también mostró diferencias en el GI (asma) se encontró en un nivel más alto que en los grupos de sobrepeso/obesidad (0.04 ± 0.5) y asma-sobrepeso/obesidad (0.1 ± 0.1). La interleucina-13 es producida por los linfocitos T y modula la producción de IL-1, TNF α , IL-8 y de la proteína inflamatoria del macrófago. Estimula el crecimiento y la diferenciación de las células B, e inhibe las células Th1, así como la producción de citocinas inflamatorias. El hecho de que sea una citocina antiinflamatoria nos podría explicar su elevación en los asmáticos ya que estos no llevan un proceso inflamatorio crónico y desregulado tan marcado como en los otros tres grupos. Debido al número de pacientes que llevamos hasta ahora incluidos, por el momento no podemos realizar un análisis de correlación.

Estaremos citando más pacientes próximamente para poder correr una segunda placa (27-plex) y así obtener más información.

Otros marcadores han sido propuestos para evaluar el nivel de inflamación de la vía aérea en pacientes con asma, tales como el fracción espirada de óxido nítrico (FENO) y la capacidad pulmonar de difusión de monóxido de carbono (DLCO), este último ha sido estudiado en niños con asma, reportándose estar aumentado. No existen reportes previos de estos marcadores en el trinomio de asma, sobrepeso/obesidad, diabetes tipo 2 (A/S/O/diabetes). El análisis del presente estudio no mostró diferencias significativas en la medición de estos marcadores.

La proteína de las células de club 16 (CC-16) es un biomarcador sensible de la integridad del epitelio de las vías respiratorias y no se conocen hasta la fecha actual, estudios que muestren una relación entre la concentración de la proteína de las células de club 16 (CC-16) y el trinomio sobrepeso/obesidad/diabetes. En estudios previos, Guerra S y colaboradores mostraron que CC16 podría ser un predictor de deterioro de la función pulmonar y desarrollo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), Ye Q, Fujita M y colaboradores encontraron asociación entre CC16 y asma, sin embargo, Rava M y colaboradores reportaron que los hallazgos de asociación entre CC-16 y asma son conflictivos, aunque, indicaron una asociación de CC16 y pruebas de función respiratoria, pero no con asma. El estudio presentado sería el primero en buscar una asociación entre sobrepeso u obesidad más diabetes tipo 2 con asma, los resultados hasta el momento no muestran una relación estadísticamente significativa, aunque aún no

se puede sacar conclusiones, ya que el tamaño de muestra pequeño de este grupo de pacientes es una limitación.

En cuanto a la eosinofilia, era de esperarse una elevación en los pacientes asmáticos. Aquí llama la atención la mayor eosinofilia en el grupo de asma-sobrepeso/obesidad-DM2 en comparación a los otros dos grupos de pacientes asmáticos. En base a estos hallazgos podemos decir que los pacientes con asma-sobrepeso/obesidad-DM2 tuvieron una mayor eosinofilia que los pacientes con asma-obesidad. Este dato se puede explicar diciendo que en la obesidad y DM2 existe una inflamación crónica que podría favorecer la alteración de los procesos inflamatorios al igual que la liberación de citocinas tales como IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8 y TNF- α que también se encontraron elevadas en el grupo de asma-sobrepeso/obesidad-DM2 y se sabe que contribuyen al reclutamiento y activación de los eosinófilos.

Falta completar el tamaño estimado de la muestra para establecer conclusiones más sólidas.

CONCLUSIONES:

Se observa un incremento significativo en el número de eosinófilos en el trinomio asma/obesidad/diabetes 2.

Los resultados obtenidos hasta el momento parecen indicar que el hecho de padecer dos o más comorbilidades asociadas a asma, tiene un impacto negativo sobre la función respiratoria de estos pacientes.

Nuestro número de muestra es limitado para emitir más conclusiones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Enfermedades Respiratorias Crónicas. Organización Mundial de la Salud. 2016.
2. Global Initiative For Asthma (GINA). Consenso de la Organización Mundial de la Salud y el Instituto Nacional de EEUU sobre patogenia, diagnóstico y tratamiento del asma para especialistas, con versiones simplificadas para el clínico general. 2016.
3. Pontificia Universidad Católica de Chile. Aparato Respiratorio y Fisiología Clínica. Parte V Enfermedades Respiratorias. Sección 4 Enfermedades Obstructivas. Capítulo 35 Asma Bronquial. 2011.
4. . M. C. Rodríguez, F. Gómez y J. Sánchez-Yagüe. Las Citocinas Y Su Papel En El Asma Bronquial Y La Rinitis. Neumosur: Revista de la Asociación de Neumólogos del Sur vol.11, Numero 2, 2014. Hospital Clínico Universitario y Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Salamanca.
5. G. Blancas-Flores, J. Almanza-Pérez, R. López-Roa. La obesidad como un proceso inflamatorio. Bol Med Hosp Infant Mex. P: 88-97. Vol. 67, Marzo-Abril 2011.

6. L Martí, A Moreno, X Filella. Cytokines value as a sepsis and mortality predictor in elderly patients with fever. Vol. 121. Núm. 10. 27 Septiembre 2013.
7. A. Moreno Galdó. Marcadores de la enfermedad asmática: de la función pulmonar al aire espirado. Diagnóstico y Terapéutica del Asma en la Infancia. Monografías. Unidad de Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística. Hospital Universitario Vall D`Hebron. Barcelona, España. P. 37-47.
8. González-Mangado N. Análisis Del Condensado Exhalado: ¿Una Técnica Con Futuro? Servicio De Neumología. Fundación Jiménez Díaz-Ute. Madrid. España. Arch Bronconeumol. P. 41(10):540-1
9. A. Moreno Galdó. Marcadores de la enfermedad asmática: de la función pulmonar al aire espirado Unidad de Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística. Hospital Universitari Vall Hebron. Barcelona. EspañaAn Pediatría. P.37-47.
10. Eficacia del esputo inducido en la evaluación del control del asma en escolares y adolescentes. Revisión sistemática V. Monroy Colín, J. Huerta López Vol. 19, Num.2 P. 40-55. Mayo-Agosto 2011.
11. L. Prieto. El esputo inducido como método para el estudio de la inflamación bronquial. Departamento de Medicina, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia, Valencia, España. Arch Bronconeumol.2011;47:330-4
12. L. Miranda-Garduño y A. Reza-Albarrán. obesidad, inflamación y diabetes. Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de

Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, SSA, México D.F., México.
Vol. 144 No. 1, 2010.

- 13.S. Hernández-Jimenez. Fisiopatología de la Obesidad. Medigraphic Artemisa. Departamento de Endocrinología y metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". D.F. Gac Méd Méx Vol.140, Suplemento No. 2, 2014.
- 14.A. Barquilla García, J. Mediavilla Bravob, J. Comas Samperc. Recomendaciones de la Sociedad Americana de Diabetes para el manejo de la diabetes mellitus. Semergen. 2012; 36(7):386–391.
- 15.Physical Status: The Use and Interpretation of Anthopometry. WHO Technical Report Series. Geneva 1995. P. 1-416. Menor circunferencia abdominal, mejor salud. Comunicado de Prensa no. 740. 31/12/2005.
http://www.salud.gob.mx/ssa_app/noticias/datos/2005-12-31_1914.html
- 16.Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome - Bernardo Léo Wajchenberg. First Published Online: April 20, 2011.
<http://press.endocrine.org/doi/full/10.1210/edrv.21.6.0415#sthash.3kmriY0Y.dpuf>.
- 17.Interpretación de resultados. Monitor de composición corporal. HBF500- E.book Page 232 Wednesday, October 17, 2007 10:40 AM
- 18.A. De Diego Damián, J. Cortijo Gimeno, M. Selma Ferrer. Estudio del efecto de citocinas proinflamatorias en las células epiteliales de pacientes fumadores con o sin EPOC. Hospital Universitario Politécnico La Fe, Valencia, España. Fundación de Investigación, CIBERES, Instituto de Salud

Carlos III Dpto. de Farmacología, Facultad de Medicina Universidad de Valencia. Recibido 16 febrero 2011, Aceptado 13 abril 2011.

19. Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: A randomised controlled trial. *Lancet*. 2012; 360: 1715-21.

20. F. González Garrido. Marcadores De Inflamación En El Seguimiento Del Paciente Asmático. *Revision Patología Respiratoria. Hospital Universitario* 12 De Octubre. Madrid. 2014; 10(4): 204-206