

Asociación entre adipocinas y moléculas de adhesión en adultos asmáticos con y sin obesidad comparados con adultos sanos

Association between adipocines and cellular adhesion molecules in asthmatic adults with or without obesity compared with healthy adults

Rafael Mondragón-González¹, Nora Hilda Segura-Méndez², Leonel Del Rivero-Hernández², Jorge G. Rodríguez-Velasco², Miguel Cruz López³.

1. Unidad de Investigación Médica en Dermatología y Micología. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. 2. Servicio de Alergia e Inmunología. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. 3. Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia: Rafael Mondragón-González MSc, UIM en Dermatología y Micología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores, C. P. 06725, México D. F. México
Tel. (52) 5627 6900 ext 21480 Fax (52) 54261944, e-mail: rafmg@yahoo.com

ARCHIVOS DE ALERGINIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA 2007;38(4):155-158

Palabras clave: asma, adipocinas, obesidad, inflamación.

Keywords: asthma, adipocins, obesity, inflammation.

Introducción

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta las vías respiratorias. Clínicamente se caracteriza por la obstrucción reversible del flujo aéreo y una hiperreactividad bronquial que evoluciona hacia la remodelación de las vías respiratorias.

Su diagnóstico y severidad se clasifican de acuerdo con el consenso de Estrategia Global para la Prevención y Manejo del Asma (GINA). La inflamación alérgica debe a la exposición a alérgenos [1,2].

Estudios epidemiológicos han mostrado una relación directa entre asma y el incremento en el índice de masa corporal (IMC), los resultados indican un riesgo del 80% de padecer asma [3,4]. Se ha descrito que en la obesidad existe un estado inflamatorio crónico debido a que el adipocito secreta citocinas de tipo proinflamatorio, tales como: interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y resistina, que favorecen el deterioro microvascular y macrovascular en individuos obesos [5].

Se estima que la tercera parte del total de resistina e IL-6 en suero tiene su origen en el tejido adiposo, y se ha comunicado que las concentraciones elevadas de estas adipocinas afectan de forma negativa el metabolismo de lípidos y glucosa [6,7]; además, se han correlacionado con el aumento del ín-

dice de masa corporal (IMC) y, recientemente, con la resistencia a la insulina.

Por otro lado, el aumento en la síntesis de TNF- α e IL-6 en el tejido adiposo produce disminución de la actividad de la lipasa lipoproteica e incrementa la lipólisis, con la consecuente liberación en forma soluble de ácidos grasos, favoreciendo la secreción hepática de triglicéridos y de proteína C reactiva; todos estos efectos contribuyen a la resistencia a la insulina asociada con la obesidad y el desarrollo del síndrome metabólico [8,9].

La resistina sintetizada por el adipocito disminuye el transporte celular de la glucosa y modula en otras células del sistema inmune la producción de citocinas TNF- α e IL-6 [10,11]. Estudios *in vivo* con resistina recombinante aplicada en ratas han confirmado que se genera resistencia a la insulina a nivel hepático e incremento en la producción de glucosa [12]. En individuos obesos, la sobreexpresión de resistina se correlaciona con la resistencia a la insulina y el incremento de lípidos de baja densidad (LDL), que resultan ser factores de riesgo de padecer síndrome metabólico y diabetes tipo 2 [13,14].

La inflamación crónica presente en la obesidad, así como los procesos asmáticos, tienen en común el incremento de los niveles séricos de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión. Se ha encontrado que las altas concentraciones de

VCAM-1 e ICAM-1 están en estrecha relación con la inflamación de las vías respiratorias de pacientes asmáticos después de tener un contacto con el alérgeno [15,16].

Estas citocinas y moléculas de adhesión se han propuesto como marcadores de inflamación continua en pacientes con enfermedades crónico-degenerativas tales como la arteriosclerosis, síndrome metabólico, diabetes tipo 2 y, recientemente, el estrés [17,18].

Sobre la base de lo anterior, el objetivo del presente trabajo consistió en determinar la asociación entre las concentraciones de citocinas proinflamatorias IL-6, resistina, TNF- α y las moléculas de adhesión solubles E-selectina y VCAM-1 en los sueros de pacientes asmáticos adultos con obesidad y sin obesidad, en comparación con un grupo de individuos sanos no obesos.

Material y métodos

El estudio fue transversal y comparativo, los pacientes asmáticos que se incluyeron en el estudio asisten regularmente al Servicio de Alergia e Inmunología del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda”, del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Se analizaron 30 pacientes con asma, de acuerdo con los criterios internacionales (GINA, 2004), los cuales fueron clasificados, de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de Salud [19], según su IMC en dos grupos iguales: obesos (IMC > 30) y no obesos, como grupo control se examinaron 15 individuos sanos, sin obesidad, hipertensión, diabetes y ningún indicio de padecer síndrome metabólico.

A todos los pacientes se les realizó historia clínica completa e IMC. Fueron excluidos aquellos pacientes con hipertensión arterial sistémica, cardiopatía, dislipidemias, tabaquismo, cirrosis hepática y con cualquier tipo de diabetes.

Para el estudio, a cada participante se le tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica y se separó el suero por centrifugación, se descartaron los que resultaron estar hemolizados, lipídicos y contaminados. Los sueros inmediatamente se almacenaron a -70°C en criotubos Eppendorf® estériles de 2 mL hasta su empleo.

La cuantificación fue mediante el uso de kits comerciales de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich: para las citocinas IL-6 y la resistina (Peprtech®, Rocky Hill, NJ), para TNF- α (BD Bioscience Pharmingen®, San Diego CA) y para las moléculas de adhesión solubles E-selectina y VCAM-1 (R&D Systems®, Minneapolis, MN). A pesar de que se utilizaron diferentes marcas comerciales, todas comparten reactivos semejantes y el principio metodológico es el mismo, el cual consiste en una serie de incubaciones y lavados. La principal metodología, así como los reactivos utilizados en los kits fueron los siguientes: a) amortiguador para el anticuerpo de captura: solución diluyente de carbonato de sodio (100 mM pH = 9,5) con un anticuerpo monoclonal

anticitocina o antimolécula de adhesión; b) reconocimiento: unión de la citocina o molécula de adhesión presente en el suero problema; c) diluyente de detección: amortiguador de fosfatos salina complementado (PBS 150 mM pH = 7,2 con suero fetal bovino al 10%) con un segundo anticuerpo biotinilado dirigido contra la molécula estudiada; d) amortiguador de conjugado: avidina-peroxidasa diluida en PBS y suero fetal bovino al 10% y e) solución de revelado: amortiguador de tetrametilbenzidina adicionado con H₂O₂ al 3% (BD Bioscience Pharmingen®, San Diego, CA) y frenado enzimático con H₂SO₄ 2N.

Las densidades ópticas se hicieron en un lector Multiscan Ascent V1.22® a una longitud de onda de 450 nm. Cada muestra fue analizada por duplicado y expresada como el promedio \pm desviación estándar. Las concentraciones se obtuvieron mediante regresión lineal empleando los estándares de cada citocina y molécula de adhesión, expresadas como picogramos por mililitro (pg/mL).

Para determinar las diferencias significativas entre grupos se utilizó el programa de computo SPSS® v.12 (SPSS Inc., Chicago IL), calculándose la U de Mann-Whitney. Los valores que resultaron tener $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultados

Ingresaron al estudio un total de 30 pacientes con asma. El Grupo I (asmáticos obesos) estuvo conformado por 2 hombres y 13 mujeres, edad promedio de 35,7 años e IMC = 30, en grupo II (asmáticos no obesos) participaron 15 mujeres con edad promedio de 33,4 años y el Grupo III (sujetos sanos) estuvo conformado por 10 hombres y 5 mujeres con edad promedio de 31,3 años.

Al clasificarse los pacientes asmáticos de acuerdo con la clasificación de GINA, se encontraron los siguientes resultados: en el Grupo I, seis pacientes (40%) presentaron una forma leve intermitente (ALI); cuatro (26,6%) con asma leve persistente (ALP) y cinco (33,4%) presentaban asma moderada persistente (AMP). Para el grupo II, nueve pacientes (60%) fueron clasificados con asma ligera persistente (ALP); cuatro (26,6%) con asma moderada persistente (AMP) y un paciente (6,7%) para cada una de las formas clínicas de asma ligera persistente (ALI) y asma severa persistente (ASP).

Al asociar las concentraciones de adipocinas séricas con la clasificación GINA y el índice de masa corporal (Figura 1), se observó que la mayor concentración de la principal adipocina proinflamatoria, resistina, se obtuvo en el paciente con ASP y obesidad, con un promedio de 1049,81 pg/mL, mientras que concentraciones hasta catorce veces mayores se registraron en los pacientes con ALP y obesidad en comparación con los no obesos (1127,19 \pm 171,71 y 76,84 \pm 51,89 respectivamente). Concentraciones similares se obtuvieron al comparar la forma clínica ALI con obesidad (834,88 pg/mL) y no obesos (75,46 pg/mL); no se detectó resistina en indivi-

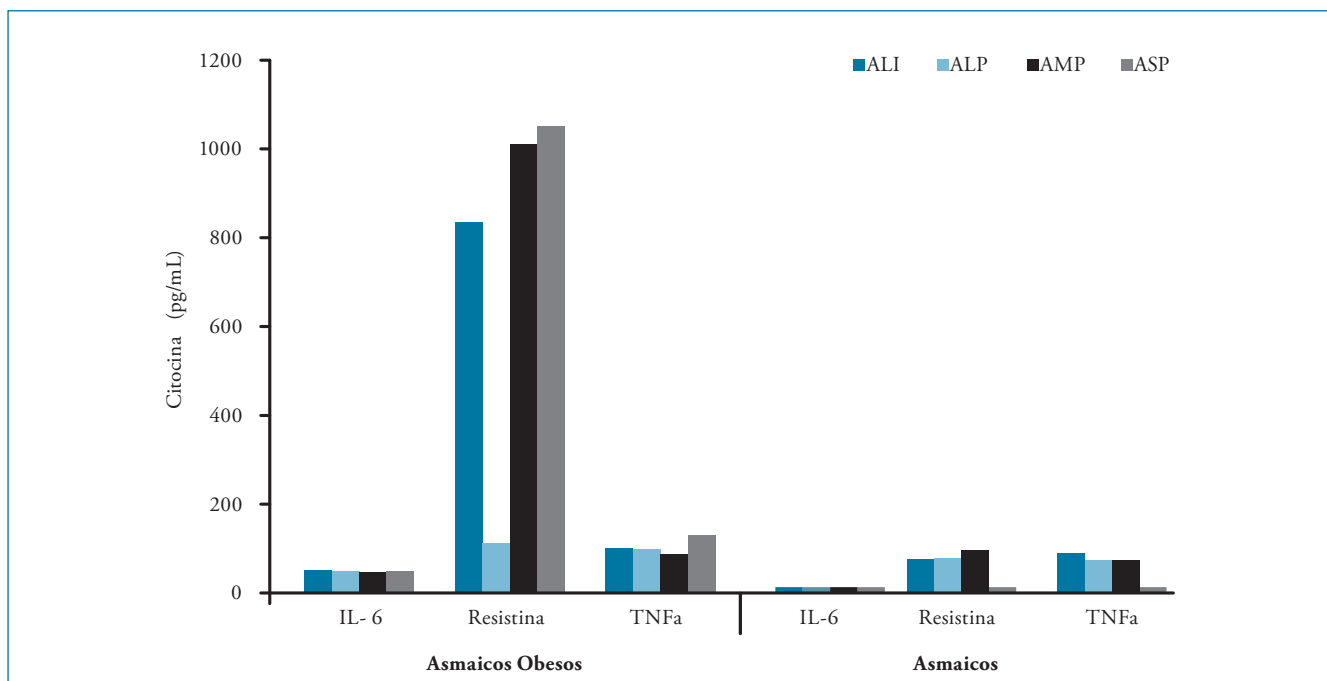


Figura 1. Citocinas pro inflamatorias detectadas entre los pacientes con asma de acuerdo a su severidad e índice de masa corporal.

duos sanos. Todos los pacientes obesos, independientemente del grado de severidad de su enfermedad, mostraron elevados niveles de IL-6 en comparación con los pacientes no obesos: ASP ($47,70$ pg/mL); ALI ($50,68$ pg/mL); ALP ($48,89 \pm 14,38$ vs. $1,47 \pm 0,98$ pg/mL) y AMP ($45,10 \pm 19$ vs $2,17 \pm 1,33$ pg/mL). La producción de IL-6 en los individuos sanos fue significativamente menor en comparación con los pacientes asmáticos con y sin obesidad ($1,06 \pm 1,41$ pg/mL). Los niveles de TNF- α no fueron significativos entre los diferentes tipos de asma con y sin obesidad ($p = 0,026$), pero sí lo fueron al comparar los pacientes con asma obesos con los individuos sanos (Tabla 1).

Tabla 1. Promedios de citocinas e índice de masa corporal en 30 pacientes con asma y 15 individuos sanos.

Citocina (pg/mL)	Asmáticos obesos	Asmáticos no obesos	Individuos sanos	P
Resistina	$1137,2 \pm 150,5$	$96,4 \pm 57,5$	0,00	<0,0001
IL-6	$49,3 \pm 11,7$	$2,1 \pm 1,3$	$1,06 \pm 1,4$	<0,0001
E-selectina	$11009,9 \pm 299,6$	$12775,2 \pm 2756,9$	$11695,6 \pm 2779,1$	0,520
VCAM-1	$5897,7 \pm 197,9$	$6049,3 \pm 281,7$	$5897,78 \pm 197,9$	0,878
TNF- α	$101,9 \pm 22,2$	$85,7 \pm 14,6$	$70,18 \pm 16,3$	<0,001
IMC (kg/m ²)	$35,6 \pm 4,5$	$24,4 \pm 2,5$	23 ± 2	<0,001

Las concentraciones de moléculas de adhesión VCAM-1 y E-selectina solubles no mostraron diferencias significativas entre los diferentes tipos de asma con y sin obesidad ni tampoco en los individuos sanos.

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman la similitud entre los adipocitos y las células del sistema inmune en relación con la secreción de citocinas proinflamatorias, se sabe que su incremento altera las principales vías metabólicas e incrementa la probabilidad de padecer síndrome metabólico y diabetes [18,19].

Las adipocinas resultan ser clave en la modulación de las concentraciones de glucosa, afectan la sensibilidad a la insulina, además determinan la síntesis y participación de proteínas involucradas en los procesos inflamatorios causados principalmente por células del sistema inmune innato.

Nuestros resultados son acordes con los informes previos en cuanto a que existe una relación estrecha entre la severidad el asma y el índice de masa corporal, especialmente en pacientes con asma moderada persistente (AMP) y obesidad [21].

Los datos obtenidos en nuestro estudio sugieren que la asociación entre severidad de asma y la presencia de obesidad reasocia a las altas concentraciones de citocinas proinflamatorias (resistina, TNF- α e IL-6) detectadas en pacientes obesos y que probablemente sean los causantes de la exacerbación del daño en las vías respiratorias y al alterar el metabo-

lismo de los hidratos de carbono se favorezca el desarrollo de síndrome metabólico en estos pacientes [21,22].

La asociación entre la presencia de asma y de obesidad es mayor en mujeres después de la pubertad y aquellas con menarca temprana, dado que los factores hormonales pueden constituir factores de riesgo para incrementar la respuesta inflamatoria generada por el tejido (22).

Las concentraciones obtenidas de E-selectina y VCAM-1 fueron muy similares en todos los grupos analizados; sin embargo, diversos estudios señalan que sujetos aparentemente sanos que habitan en grandes urbes con altos índices de contaminantes y polución presentan aumento en la concentración de estas moléculas de adhesión [23,24].

Sobre la base de lo anterior, los datos obtenidos para las citoquinas tipo Th2 presentes en asma y obesidad, especialmente resistina, TNF- α e IL-6, podrían ser empleados en la práctica clínica a mediano plazo, para aportar información útil en la predicción de formas clínicas más severas.

Bibliografía

- Maddox L, Schwartz D. The Pathophysiology of asthma. *Annu Rev Med* 2002;3:477-498
- Lemanske RF, Busse WW. Asthma. *JAMA* 1997; 278:1855-1857
- Vázquez GJ. Obesidad y asma. *Rev Invest Clin* 2002;54:453-461
- Zeledon JC, Palmer JL, Litonja AA body Mass Index and asthma in adults in families of subject with asthma in Anging china. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1835-1840
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312.
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M et al Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-1808.
- Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L. et al Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol* 2005;174:5789-5795
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring J.E, Rifai N.: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Eng J Med* 2000; 342:836-43
- Ross R. Arteriosclerosis an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999;138:S419-20
- Vidal-Puig A, O'Rahilly S. Resistin: a new link between obesity and insulin resistance? *Clin Endocrinol* 2001; 55:437-448.
- Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003; 46:1594-1603.
- Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest* 2003; 111:225-230.
- Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22:1145-1158.
- Shanshan P, Yingying L. Role of resistin in inflammation and inflammation-related diseases. *Cell Molec Immunol* 2006, 3: 29-34.
- Nakajima H., Sano, H., Yoshida, S., Role of vascular cell adhesion molecule 1/ very late activation antigen 4 and intercellular adhesion molecule 1/lymphocyte function- associated antigen 1 interactions in antigen-induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. *J. Exp. Med* 1994;179;1145-1154
- Shore S, Fredberg J. Obesity smooth muscle and airway hiperresponveness. *J Allergic Clin Immunol* 2005; 115: 925-927
- Reilly M P, Lehrke M., Wolfe M., Rohatgi A., Lazar M., Rader J. D. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005, 111: 932-939.
- Kiecolt-Glaser J. K., Preacher K., MacCallum R. C., Atkinson C., Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *PNAS* 2003, 100: 9090-9095.
- World Health Organization. Consultation on obesity: Preventing and management the global epidemic. World Health Organization, Geneva, 1998 1
- Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004; 145:2273-2282.
- Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:447-452.
- American Lung Association. Trends in asthma morbidity and mortality. Updated April 2004. Available at: <http://www.lungusa.org/atf/cf/>
- Ando M, Shima M, Adachu M. The role of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), and regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES) in the relationship between air pollution and asthma among children. *Arch Environ Health* 2001; 56:227-33
- McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002; 359:46-47.