

**RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE CITOCINAS FACTOR  
DE NECROSIS TUMORAL-ALFA, INTERLEUCINA 6 (TNF- $\alpha$ , IL-6) Y LA  
PROTEINA C REACTIVA ULTRASENSIBLE (PCR-us) EN PACIENTES  
CON SINDROME METABÓLICO**

**MABBYS CAROLINA GASCA ROJAS**

**JOHAN STEVENSON GALEANO ZEA**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito parcial para optar al título de**

**BACTERIOLOGO**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE BACTERIOLOGIA**

**BOGOTA D.C. 2009**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23, Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por qué no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

## RESUMEN

**Objetivo.** Comparar la relación entre las concentraciones plasmáticas de las citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 y la PCR-us en pacientes con síndrome metabólico (SM) e individuos sanos (edad 18-80 años). Bogotá D.C. **Materiales y métodos.** Estudio de tipo prospectivo, casos y controles. Los resultados analizados en este trabajo fueron tomados de la base de datos del grupo de investigación Clínico-Genético-Molecular en Dislipoproteinemias. Línea: Factores de riesgo cardiovascular. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bioquímica Clínica. Se incluyeron 100 adultos entre 18-80 años diagnosticados con SM (50 hombres y 50 mujeres) en el Hospital Universitario San Ignacio (Bogotá D.C.) según los criterios establecidos por el NCEP/ATP III los cuales se compararon con los controles seleccionados del servicio de consulta externa de la misma entidad en igual número, distribución por género, edades similares y condiciones socioeconómicas. La selección se realizó por muestreo estratificado. **Resultados.** Se obtuvieron los datos del perímetro de cintura, así como las concentraciones de TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us por métodos estandarizados. Se empleó la *prueba t de Student* de diferencias de medias suponiendo varianzas desiguales e intervalos de confianza del 95% y un valor  $p < 0,05$ . Las concentraciones de las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6 y la PCR-us mostraron incremento significativo en los pacientes con SM en comparación a los controles, e independiente del género. **Conclusión.** Las concentraciones de TNF- $\alpha$  e IL-6 y PCR-us son superiores en SM respecto a los controles, e independiente del género en concordancia con las directrices establecidas por NCEP/ATP III.

**Palabras clave:** Síndrome metabólico. TNF- $\alpha$ . IL-6. PCR-us. Perímetro de cintura. Adiposidad.

## SUMMARY

**Objective.** To compare the relation between the plasmatic concentrations of the cytokines TNF- $\alpha$ , IL-6 and the PCR-us in patients with SM and healthy individuals (age 18-80 years old). Bogotá D.C. **Materials and methods.** Prospective study, fact and controls. The results analyzed in this work were taken from the data base of the group of Clinical-Genetic-Molecular investigation in Dislipoproteinemias. Line: Factors of cardiovascular risk. Pontificia Javeriana University. Faculty of Sciences. Clinical biochemistry. 100 adults between 18-80 years old were included themselves diagnosed with SM (50 men and 50 women) in the University Hospital San Ignacio (Bogota D.C.) according to the criteria established by the NCEP/ATP III which was compared with the selected controls of the external advisory service of the same organization in equal number, similar distribution by sort, ages and social-economics conditions. The selection I am made by stratified sampling. **Results.** The data of the waist perimeter, as well as the concentrations of TNF- $\alpha$ , IL-6 and PCR-us by standardized methods were obtained. One was used *test t of Student* of differences of averages supposing unequal variances and intervals of confidence of 95% and a value  $p < 0,05$ . The concentrations of cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6 and the PCR-us showed significant increase in the patients with SM in comparison the controls, and independent of the sort. **Conclusion.** The concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-6 and PCR-us are superior in SM with respect to the controls, and independent of the sort in agreement with the directives established by NCEP/ATPIII.

**Key words:** Metabolic syndrome. TNF- $\alpha$ . IL-6, PCR-us. Perimeter of waist. Adiposity.

## LISTA DE GRAFICAS Y TABLAS

**Tabla 1.** Valores promedio y desviación estándar del perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR-us en individuos con SM y sus controles en Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 13**

**Tabla 2.** Intervalos de confianza del 95% para los niveles promedio poblacionales del perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us, para los pacientes con SM y los controles. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 16**

**Tabla 3.** Valores  $p$  de la prueba t unilateral para dos muestras suponiendo varianzas iguales en la variable TNF- $\alpha$  en pacientes con SM y sus controles. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 17**

**Tabla 4.** Valores  $p$  de la prueba t unilateral para dos muestras suponiendo varianzas desiguales en las variables perímetro de cintura, IL-6 y la PCR-us en individuos con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 17**

**Tabla 5.** Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico t de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en individuos con SM comparado con sus controles. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 18**

**Tabla 6.** Correlaciones entre las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en individuos con SM. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 18**

**Tabla 7.** Valores promedio y desviaciones estándar de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en pacientes con SM y sus controles según género. Bogotá DC. Colombia.

**Pág. 22**

**Tabla 8.** Valores  $p$  de las pruebas de comparación de las variables perímetro de cintura, IL-6 y la PCR-us en hombres y mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 24**

**Tabla 9.** Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico  $t$  en hombres y mujeres de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us para los pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 24**

**Tabla 10.** Intervalos de confianza del 95%, para los promedios poblacionales de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en pacientes hombres y mujeres diagnosticados con SM y sus respectivos controles. Bogota DC. Colombia. **Pág. 24**

**Tabla 11.** Valores  $p$  de las pruebas de comparación de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y la PCR-us en hombres y mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogota DC. Colombia. **Pág. 25**

**Tabla 12.** Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico  $t$  en hombres y mujeres de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us para los pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 26**

**Tabla 13.** Consolidado descriptivo de la información obtenida con las muestras (medias y desviación estándar) en pacientes con SM y controles para las variables: perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 26**

**Gráfica 1.** Promedio del perímetro de cintura (cm) de pacientes con SM y los controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 13**

**Gráfica 2.** Promedio de TNF- $\alpha$  (pg/mL), IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de pacientes con SM y los controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 14**

**Gráfica 3.** Relación de las variables perímetro de cintura vs TNF- $\alpha$  en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 19**

**Gráfica 4.** Relación de las variables perímetro de cintura vs IL-6 en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 19**

**Gráfica 5.** Relación de las variables perímetro de cintura vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 20**

**Gráfica 6.** Relaciones de las variables TNF- $\alpha$  vs IL-6 en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 20**

**Gráfica 7.** Relación de las variables TNF- $\alpha$  vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 21**

**Gráfica 8.** Relación de las variables IL-6 vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 21**

**Gráfica 9.** Promedio del perímetro de cintura (cm) de hombres y mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 22**

**Gráfica 10.** Promedio TNF- $\alpha$ , IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de pacientes hombres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 23**

**Gráfica 11.** Promedio TNF- $\alpha$ , IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de pacientes mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia. **Pág. 23**

## INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) fue reconocido hace más de 80 años como una entidad clínica controvertida (Teramoto *et al.*, 2008). Se define como el conjunto de rasgos clínicos que se traducen en resistencia a la insulina (RI) (Daskalopoulou *et al.*, 2006). Puede incluir: dislipidemias representada por disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) e hipertrigliceridemia, hiperglicemia, obesidad de distribución central, e hipertensión arterial (HTA), en diferentes combinaciones según el criterio de definición empleado por expertos en el tema (Eckel *et al.*, 2005). Otros autores describen alteraciones hematológicas y de la fibrinólisis, estado pretrombótico, disfunción endotelial y presencia de concentraciones circulantes elevadas de marcadores de inflamación. Estas alteraciones involucradas con el SM, le confieren morbimortalidad cardiovascular elevada (Martínez *et al.*, 2003). Surge con variaciones fenotípicas amplias en individuos con predisposición endógena, determinada genéticamente o condicionada por factores ambientales asociados al estilo de vida (Crepaldi y Maggi, 2006; Del Álamo, 2008; Laclaustra *et al.*, 2005).

Durante los últimos años, diversos estudios han propuesto que la obesidad podría ser una condición inflamatoria relacionada con RI, trastornos cardiovasculares y el SM (Kahn y Flier, 2000). En la actualidad, se ha considerado que el tejido adiposo (TAdip) además de ser reserva energética, actúa como glándula endocrina de actividad alta, generando amplia variedad de moléculas conocidas como adipocitocinas con efectos a distintos niveles en el organismo (Dinarello, 2000), vinculadas con la inflamación, como por ejemplo, la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ). Concentraciones elevadas de estas moléculas, así como de proteínas de fase aguda de origen hepático, por ejemplo, la proteína C reactiva (PCR) se han asociado con marcadores de incremento de grasa: peso, índice de masa corporal (IMC) y factores de riesgo cardiovascular, como también, con el desarrollo de procesos inflamatorios. Las alteraciones metabólicas que ocurren en la obesidad y en el SM, pueden estar influenciadas por el grado de producción de estas moléculas actuando sobre la señalización de insulina, fibrinólisis y adhesión celular al endotelio. La disfunción de la insulina parece ser consecuencia de la función del TAdip “agrandado e inflamado” como órgano secretor (González *et al.*, 2002; Recasens *et al.*, 2004).

## JUSTIFICACIÓN

La prevalencia creciente de obesidad en el mundo y sus implicaciones para la salud pública han conducido a considerar el problema del sobrepeso y del SM como epidemia del siglo XXI, tanto en países industrializados como en numerosos países latinoamericanos (Duperly, 2005). En la génesis de este nuevo panorama sanitario se sitúan tres fenómenos concluyentes: las modificaciones en los hábitos alimentarios; la tendencia al sedentarismo; y la publicidad, como promotor del consumismo innecesario. Las autoridades mundiales de la salud, han puesto en evidencia el incremento en la prevalencia del SM, por lo que se espera que dentro de aproximadamente 25 años la proporción de pacientes afectados se haya incrementado en más de un 200% en relación a los datos actuales (Pérez, 2005; García *et al.*, 2008).

Existen evidencias que relacionan el SM con incremento significativo de riesgo de padecer diabetes, enfermedad cardiovascular y disminución de supervivencia, caracterizado por RI e hiperinsulinismo compensador, asociados con trastornos del metabolismo de los carbohidratos y lípidos, HTA y obesidad (Pineda, 2008). Por ello, es de relevancia identificar y tratar oportunamente las comorbilidades existentes en estos pacientes como estrategia en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Rodríguez *et al.*, 2002; Novo *et al.*, 2006).

A través de este proyecto se busca comparar la relación entre las concentraciones plasmáticas de las citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 y de la PCR-us en pacientes con SM e individuos sanos (Edad 18 a 80 años), corroborándose que en sujetos obesos y con sobrepeso, existe un estado proinflamatorio, lo que explicaría la estrecha y significativa relación con el IMC que afecta la salud del paciente, de esta manera, es posible contribuir a mejorar la calidad de vida de esta población.

Conociendo el impacto que genera el SM en la salud pública nacional, el aumento de la incidencia de enfermedades de alta morbimortalidad, y teniendo en cuenta que en la revisión bibliográfica realizada, en nuestro país no se hallaron antecedentes al problema, se considera importante la realización de esta investigación, por que generaría conocimiento acerca de la situación en Colombia, y complementaría los resultados obtenidos por otros investigadores del grupo Clínico-Genético-Molecular en

Dislipoproteinemias. Línea: Factores de riesgo cardiovascular; cumpliendo papel de respaldo a investigaciones previas, y como referencia, para futuros estudios. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bioquímica Clínica.

## MARCO TEÓRICO

La frecuente y simultánea existencia de obesidad, dislipidemia, diabetes e HTA fue descrita inicialmente por Avogaro *et al.*, en 1967. Posteriormente fue resaltada en 1977 por algunos investigadores alemanes Haller *et al.*, (1977) así como por Singer *et al.*, (1977) quienes acuñaron el término de SM y describieron su asociación con la aterosclerosis (Haller *et al.*, 1977; Singer *et al.*, 1977). En 1988 Gerald Reaven sugirió, que estos factores tendían a ocurrir en un mismo individuo en la forma de un síndrome que denominó “X” en el que la RI era la característica base (Rodríguez *et al.*, 2002; Alberti *et al.*, 2006).

El concepto de RI fue descrito por Himsworth hace más de 60 años y se consideró su participación etiopatogénica en diversas enfermedades metabólicas (Himsworth, 1939). Esta condición establece hiperinsulinemia e hiperglicemia, binomio que se asocia a incremento significativo de morbimortalidad cardiovascular, relacionado a hipertensión sistémica, obesidad y diabetes, todas ellas vinculadas fisiopatológicamente, y que en su conjunto se les denomina SM (Carillo *et al.*, 2006).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), el Grupo Europeo para el Estudio de la Insulinorresistencia (EGIR: *The European Group for the Study of Insulin Resistance*), el Tercer Informe del Panel de Expertos del Programa Nacional de Educación y Control del Colesterol (NCEP: *The Third Report National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection*) y el Panel para Evaluación y Tratamiento del Colesterol Alto en Sangre de Adultos: *Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults* (ATP III: *Adult Treatment Panel III*), entre otros, han desarrollado diferentes criterios para el diagnóstico del SM. Éstos coinciden en la identificación de manifestaciones asociadas a insulinorresistencia tales como la glicemia alterada en ayunas (GAA) o la existencia de diabetes mellitus (DM), HTA, obesidad y dislipidemias. Las diferencias consisten en el peso que se le confiere a cada uno de sus componentes o a los índices empleados para el cálculo de obesidad, lo que ocasiona variación en las prevalencias según raza y criterio aplicado (Grundy, 2005).

En 2001, el tercer informe del NCEP/ATPIII define al SM por la presencia de 3 de 5 criterios clínicos: 1. Perímetro de la cintura ( $\geq 102$  cm en hombres y 88 cm en mujeres). 2.

Triglicéridos ( $\geq 150$  mg/dL). 3. HDL-c ( $< 40$  mg/dL en hombres o de 50 mg/dL en la mujer), 4. Tensión arterial ( $\geq 130/85$  mmHg) y 5. Glicemia en ayunas ( $> 110$  mg/dL). En esta definición todas las anormalidades están consideradas en el mismo grado de relevancia. Además, pone de manifiesto la importancia de la grasa abdominal en la génesis del síndrome definiendo la obesidad por un perímetro de la cintura mayor a determinados umbrales y no por el IMC (Carvajal y Salazar, 2008).

El SM, definido en base a los criterios del ATP III, se asocia a riesgos de padecer a futuro, diversas patologías. Así, en orden descendente, mayor frecuencia de lesiones tempranas en los órganos blanco, rigidez arterial y engrosamiento de la pared de la carótida; desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) o HTA, y enfermedad cardiovascular; además el incremento en la concentración de marcadores de inflamación (Carvajal y Salazar, 2008).

La obesidad y la RI son los componentes claves del SM e involucran un estado proinflamatorio que disminuye la capacidad de la insulina para ejercer las acciones en los órganos blanco, fundamentalmente, en hígado, músculo esquelético y TAdip. Esto conlleva elevación sanguínea de la glucosa y de la insulina; en consecuencia, hay disminución del depósito de la glucosa mediado por insulina en el músculo, y lipólisis exagerada del TAdip manifestada por exceso de ácidos grasos libres (AGL) circulantes que contribuyen en el proceso aterogénico y que agravan la RI en el músculo esquelético y en el hígado (Laclaustra *et al.*, 2005).

En la actualidad, se considera que el TAdip además de ser reserva energética, actúa como glándula endocrina de actividad alta, generando amplia variedad de moléculas conocidas como adipocitocinas con efectos a distintos niveles en el organismo (Dinarello, 2000), vinculadas con la inflamación, como por ejemplo, la IL-6 y el TNF- $\alpha$ . Concentraciones elevadas de estas moléculas, así como de proteínas de fase aguda de origen hepático, por ejemplo, la PCR se ha asociado con marcadores de incremento de grasa (peso, IMC, y factores de riesgo cardiovascular), como también, con el desarrollo de procesos inflamatorios. Las alteraciones metabólicas que ocurren en la obesidad y en el SM son influenciadas por el incremento en la generación de estas moléculas actuando sobre la señalización de insulina, fibrinólisis y adhesión celular al endotelio. La disfunción de la insulina parece ser consecuencia de la función del TAdip “agrandado e inflamado” como órgano secretor (González *et al.*, 2002; Recasens *et al.*, 2004).

Las citocinas son una familia de moléculas solubles antígeno no-específicas; intervienen en la estimulación y regulación de las células del sistema inmune donde promueven efectos de citolisis, quimiotaxis del sistema inmune y en los mecanismos de los procesos inflamatorios. Son polipéptidos o glicoproteínas con peso molecular inferior a 30 kDa, sin embargo, algunas pueden formar oligómeros de peso mayor (Opal y De Palo, 2000; Zulet *et al.*, 2007).

Se originan en diversos tejidos, incluyendo el TAdip, donde actúan como mediadores de la comunicación intercelular llevando la información al tejido blanco a través de la unión con su ligando. En la actualidad se reconoce que en el TAdip las citocinas tienen papel relevante en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos participando en la regulación del balance energético del organismo (González *et al.*, 2002).

Desde el punto de vista estructural el TNF- $\alpha$  es una glicoproteína constituida por 185 aminoácidos; tiene un PM de 17 kDa. La localización del gen en humanos se halla en el cromosoma 7 p21. Conforma con otras citocinas, el estímulo en la fase aguda de la reacción inflamatoria. Es generada principalmente por macrófagos, monocitos, linfocitos, músculo y TAdip. En el TAdip su expresión es inducida por AGL y triglicéridos (TG), y se incrementa hasta 2,5 veces en sujetos obesos, correlacionándose positivamente con el grado de obesidad y con la hiperinsulinemia; además, en obesidad el aumento de las concentraciones del TNF- $\alpha$  induce la expresión de la IL-6 (Kiecolt *et al.*, 2003).

La IL-6 es una glicoproteína de 21 kDa multifuncional, generada por células del sistema inmune y células endoteliales, fibroblastos, miocitos y TAdip, intermediando en la respuesta inflamatoria y de estrés. En humanos el gen codificador se localiza en el cromosoma 7; su liberación está inducida por la interleucina 1 (IL-1) y se incrementa en respuesta al TNF- $\alpha$ . Dado que la concentración plasmática de IL-6 es proporcional a la masa grasa, el TAdip puede ser fuente muy importante de esta citocina, calculándose que la tercera parte de la concentración circulante proviene de este tejido, asociándose su producción y concentración con el IMC y otras medidas de adiposidad corporal en varones y mujeres posmenopáusicas (Recasens *et al.*, 2004).

La PCR, fue la primera proteína de fase aguda descrita y ha demostrado ser excelente marcador sensible a inflamación (Du Clos, 2000). Es producida en el hígado y su elevación está mediada por citocinas (IL-6 y TNF- $\alpha$ ) generadas en el TAdip. Fue

descubierta en 1930 por William Tillet y Thomas Francis en el Instituto Rockefeller, y su nombre proviene de la capacidad para precipitar el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae*. Esta proteína pertenece a la familia de las pentaxinas (proteínas dependientes de calcio), posee cinco subunidades idénticas codificadas por un solo gen ubicado en el cromosoma 1; estas unidades se asocian para formar una unidad pentamérica estable, con peso molecular de aproximadamente 118 kDa. Se halla en concentraciones muy bajas en sangre, pero aumenta rápidamente luego de estímulos, como por ejemplo, condiciones inflamatorias (Abbas, 2004).

El uso de la PCR como marcador de inflamación vascular fue inicialmente obstaculizado por la sensibilidad insuficiente de las pruebas existentes para medir concentraciones séricas bajas, por lo cual, fue necesario desarrollar pruebas de alta sensibilidad utilizando inmunoanálisis (quimioluminiscencia) (1990s), con las cuales, mediante la caracterización de la proteína y la obtención de anticuerpos específicos, se logró una prueba ultrasensible (PCR-us), lo cual ha mejorado sustancialmente la sensibilidad y la reproducibilidad, (Llorca *et al.*, 2002); por ello, es posible determinar concentraciones inferiores a 1 mg/dL, observadas en la población sana (Ridker, 2001). En prevención primaria, la utilidad de la PCR-us ha sido apoyada por varios estudios prospectivos epidemiológicos realizados entre individuos sin historia previa de enfermedad cardiovascular a quienes se les midió PCR-us (Ridker, 2003; Masayoshi *et al.*, 2006) y se encontró que fue predictor potente de futuros eventos cardiovasculares (Ridker, 2003; Capelini y Durazo, 2008).

El TAdip favorece la activación del sistema TNF- $\alpha$  promoviendo incremento de las fracciones solubles de sus receptores de membrana (TNFR: *Tumour necrosis factor receptor*): TNFR1 (p60) y TNFR2 (p80), que se relacionan con el IMC. Estas fracciones se originan de proteólisis de la porción extracelular del receptor cuando el TNF- $\alpha$  se une a él. El TAdip contribuye en la concentración circulante de estos fragmentos, porque el mRNA del receptor-2 del TNF- $\alpha$  se halla sobreexpresado en el TAdip de sujetos obesos y está correlacionada con el IMC y el índice cintura cadera (ICC) (Recasens *et al.*, 2004).

Este proceso se ha relacionado con la RI por defectos en la fosforilación del receptor y disminución de la expresión génica de los transportadores de glucosa (GLUT's: *Glucose Transporters*) sensibles a la insulina (Bermúdez *et al.*, 2007). Adicionalmente, el TNF- $\alpha$  parece jugar papel relevante en la fisiopatología de la HTA asociada a la obesidad y en la

dislipidemia que acompaña a la RI, como también se ha implicado en la regulación de la sensibilidad a la insulina (Recasens *et al.*, 2004).

Fisiológicamente la tercera parte de la concentración de IL-6 proviene del TAdip; sin embargo, en humanos obesos esta cantidad se incrementa y se ha relacionado con la dislipidemia (aumento de TG y c-HDL disminuido), intolerancia hidrocarbonada e HTA en el SM; además se asocia a la PCR (Recasens *et al.*, 2004).

Tanto la IL-6 como el TNF- $\alpha$  reducen la expresión de la enzima lipoproteinlipasa (LPL) y podrían tener papel fundamental en la regulación de la captación de AGL por el TAdip. Es posible que el TNF- $\alpha$  procedente del adipocito y cuya expresión aumenta en la obesidad induzca la expresión de IL-6 en TAdip y no adiposo (Recasens *et al.*, 2004).

Se ha observado existencia de inflamación sistémica en pacientes con obesidad, DM2 y enfermedades cardiovasculares (ECV), caracterizada por concentraciones séricas altas de PCR, entre otros biomarcadores (Rutter *et al.*, 2004; Ridker y Rifai, 2006). Ésta se considera factor de riesgo cardiovascular independiente y se ha asociado positivamente con el peso, con el IMC y otras medidas de adiposidad, así como con la RI (Recasens *et al.*, 2004). Sin embargo, el ejercicio físico y la pérdida de peso promueven disminución importante tanto en el peso total y grasa corporal como en la PCR, evidenciándose que el TAdip secretor contribuye con las concentraciones de PCR circulantes (Ramírez *et al.*, 2007).

## OBJETIVOS

### GENERAL

Comparar la relación existente entre las concentraciones plasmáticas de las citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 y la PCR-us en pacientes con síndrome metabólico e individuos sanos.

### ESPECÍFICOS

- Cuantificar mediante técnicas inmunométricas-enzimáticas secuenciales en fase sólida por quimiolumiscencia e inmunoturbidimetría, las citocinas plasmáticas TNF- $\alpha$ , IL-6, y la PCR-us, respectivamente, en pacientes con SM y en individuos sanos (controles).
- Comparar la relación existente entre las concentraciones de las citocinas: TNF- $\alpha$ , IL-6, y la PCR-us en pacientes con SM, según parámetros de la NCEP/ATP III y en controles sanos.
- Confrontar los resultados obtenidos con investigaciones realizadas por diferentes autores en diversas latitudes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los resultados analizados en este trabajo fueron obtenidos de la base de datos del grupo de investigación Clínico-Genético-Molecular en Dislipoproteinemias. Línea: Factores de riesgo cardiovascular. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bioquímica Clínica.

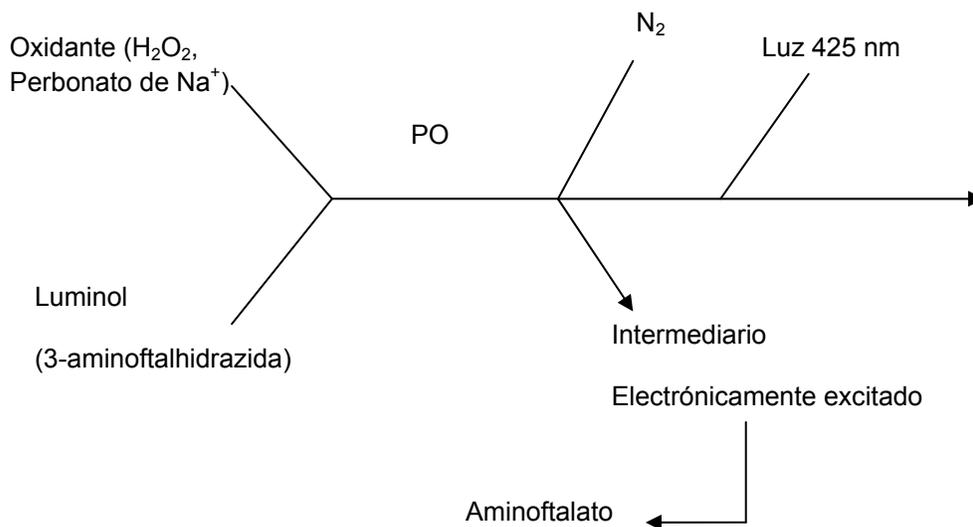
La muestra estuvo constituida por 100 adultos diagnosticados con SM (50 hombres y 50 mujeres) y para su inclusión deberían exhibir tres de los cinco criterios establecidos por el NCEP/ATP III (perímetro de cintura  $\geq$  102 cm en hombres y 88 cm en mujeres; triglicéridos  $\geq$  150 mg/dL; HDL-c  $<$  40 mg/dL en hombres o de 50 mg/dL en la mujer; tensión arterial  $\geq$  130/85 mmHg, y glicemia en ayunas  $>$  110 mg/dL) de similares condiciones socioeconómicas, con edades comprendidas entre 18 y 80 años, seleccionados en el Hospital Universitario San Ignacio de la ciudad de Bogotá D.C. Colombia. Éstos se compararon con individuos aparentemente sanos (controles), en igual número y distribución por edad y género, escogidos en el servicio de consulta externa de la misma entidad, a los cuales se les aplicó la encuesta del Anexo III indagando acerca de sus antecedentes médicos, personales, familiares y hábitos de vida. La selección buscó distribución homogénea de individuos con condiciones socioeconómicas similares, y se excluyeron aquellos con condiciones diferentes al SM. A los grupos en estudio, se les comunicó acerca de las características e importancia del estudio y se obtuvo consentimiento por escrito (Anexo I y II), el cual sigue las directrices establecidas por la Legislación Colombiana (Londoño de la Cuesta *et al.*, 1993).

Las condiciones preanalíticas fueron las recomendadas mundialmente para este tipo de valoraciones: ayuno de 8-12 horas y sin dieta previa habitual, evitando ejercicios extenuantes, estrés, entre otros. La muestra se obtuvo mediante venopunción directa en la región antecubital con agujas múltiples (Venojet<sup>®</sup>), utilizando tubos con acelerador de coagulación (Vacutainer<sup>®</sup>). Antes de un periodo de dos horas, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos y en el suero se valoraron las concentraciones plasmáticas de las citocinas (TNF- $\alpha$  e IL-6) y PCR-us.

Las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6 se midieron mediante ensayo inmunométrico-enzimático secuencial en fase sólida, por quimioluminiscencia en un instrumento INMULITE<sup>®</sup>, considerando como intervalos de referencia: TNF- $\alpha$  (0 - 8,1 pg/mL), IL-6 (3,4 - 5,9 pg/mL).

Estos rangos de referencia fueron obtenidos por los Laboratorios Siemens a partir de la elaboración de un estudio de los límites de referencia del INMULITE 2000 en muestras de suero recogidas en tubos de plástico, de 60 voluntarios sanos del laboratorio. El intervalo inferior no paramétrica de 95% oscilo de no detectable para el TNF- $\alpha$  (0 pg/mL) y de 3,4 pg/mL para la interleucina 6. El intervalo de valores absoluto oscilo de no detectable a 8,1 pg/mL y 5,9 pg/mL para el TNF- $\alpha$  y la IL-6 respectivamente. Estos límites han de considerarse solo como guía. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

El método determina un antígeno específico mediante el uso de un anticuerpo marcado con una sustancia quimioluminiscente (éster de acridina). La luminiscencia es directamente proporcional a la concentración del antígeno que esté presente en la muestra. La quimioluminiscencia se fundamenta en la emisión de radiación electromagnética (normalmente en la región visible o infrarrojo cercano) producida en el transcurso de la siguiente reacción química:



Estas incluyen reacciones redox catalizadas por enzimas que involucran  $O_2$  ó  $H_2O_2$  y un sustrato orgánico oxidable. La energía se libera como luz visible.

La PCR-us fue valorada por inmunoturbidimetría mediante la metodología ideada por Fudenberg *et al.*, (1980) (Laboratorio Siemens S.A) en la cual, las partículas de látex recubiertas con anticuerpos antiPCR humana, son aglutinadas por la PCR (antígeno) presente en la muestra del paciente formando inmunocomplejos precipitantes

rápidamente. Si existe exceso de anticuerpos, estos precipitados originan turbidez relacionada con la concentración de PCR en la muestra. La turbidimetría mide la luz dispersada mediante la disminución en la intensidad del rayo incidente al pasar por la muestra (opacidad). La turbidez se midió fotométricamente a una longitud de onda de 340 nm. Se considera como intervalo de referencia para la PCR-us hasta 1 mg/dL (Ridker, 2001; Llorca *et al.*, 2002). Las valoraciones se realizaron en los instrumentos RA-50<sup>®</sup> (Laboratorios Siemens). Para la valoración de las muestras se realizó previamente, una curva de calibración.

Para el aseguramiento de calidad del proceso se utilizaron sueros controles normales y anormales (liofilizados y líquidos) SERA - CHEK y *Qualitrol protein* (Siemens). Éstos son sueros controles, estables, diseñados para comprobar la exactitud de los diferentes analitos a valorar, y están preparados a base de sueros humanos. Para inspeccionar la eficiencia de los instrumentos, se emplearon calibradores de concentración conocida (Siemens). Todas las valoraciones se realizaron por duplicado (estándares, muestras, controles de calidad) en el laboratorio de la Especialización en Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.

El análisis de la información desde el punto de vista estadístico se utilizó la prueba t de Student para dos medias poblacionales, en el caso de la comparación por pares de grupos de los parámetros en estudio. Previo a estas pruebas se realizó la prueba F de comparación de varianzas. Se empleó además, el análisis de correlación de Pearson ( $r$ ) para medir la intensidad de la relación de dos variables de interés dentro de cada grupo. En este caso, teniendo en cuenta los tamaños muestrales y aplicando el teorema del límite central, no fue necesario hacer pruebas de normalidad para las poblaciones involucradas en el estudio. La razón teórica de esta decisión tiene como base este teorema cuya aplicación afirma que con tamaños de muestras superiores a 30, los análisis de normalidad de las variables tendrán buena confiabilidad (Mood, 1980). Se debe recordar también, que al aumentar el tamaño de la muestra se reduce el error estándar de estimación de los parámetros en estudio. Así, la muestra en este estudio corresponde a la totalidad de la población universo ( $n: 100$ ), motivo por el cual no se requiere del cálculo de muestra. Se utilizaron además, intervalos de confianza que permiten presentar los resultados obtenidos con un margen de error, con límite superior e inferior.

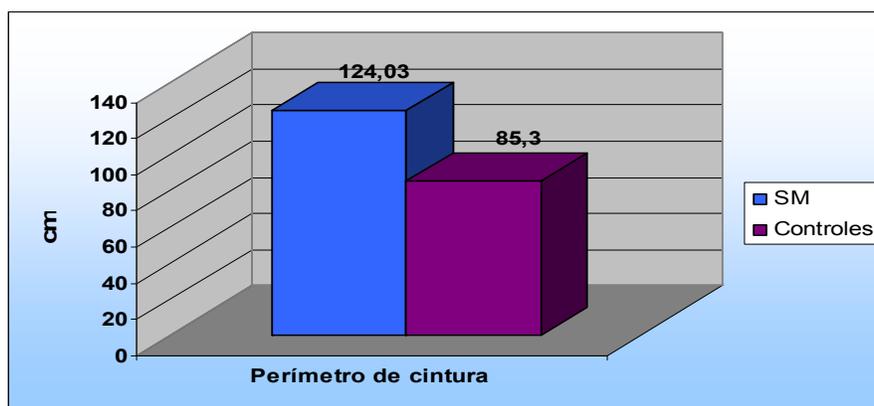
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se valoró la asociación existente entre algunos marcadores de inflamación (TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us), y el perímetro de cintura como indicador de adiposidad intraabdominal en 100 pacientes diagnosticados con SM (n: 50 hombres y 50 mujeres) y en individuos aparentemente saludables en igual número y distribución por género.

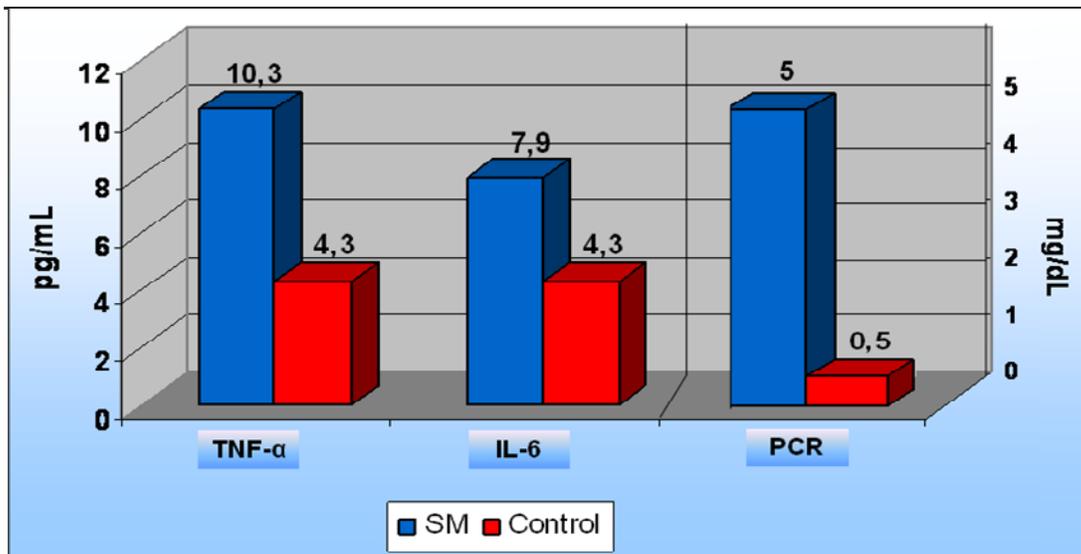
Los promedios, las desviaciones estándar de los parámetros valorados de los pacientes con SM y controles se muestran en la Tabla 1 y en las Gráficas 1 y 2.

**Tabla 1. Valores promedio y desviación estándar del perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR-us en individuos con SM y sus controles. Bogotá DC.**

Variable	SM		Controles	
	X	S	X	S
Perímetro de cintura (cm) VR: $\leq 102$ hombres $\leq 88$ mujeres	124,0	12,9	85,3	8,9
TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1	10,3	2,0	4,2	1,3
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	7,9	2,0	4,3	0,8
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$	5,0	2,5	0,4	0,3



**Gráfica 1. Promedio del perímetro de cintura (cm) de pacientes con SM y los controles. Bogotá DC. Colombia.**



**Gráfica 2. Promedio de TNF- $\alpha$  (pg/mL), IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de pacientes con SM y los controles. Bogotá DC. Colombia.**

Se observó incremento estadísticamente significativo de TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR-us y del perímetro de cintura ( $p < 0,05$ ). Estos resultados fueron similares a los logrados por González *et al.*, (2002) y por Gómez *et al.*, (2004).

En la actualidad se considera que el SM se asocia a un proceso inflamatorio, considerándolo como una patología inflamatoria crónica de grado bajo, caracterizada por elevación de las concentraciones plasmáticas de citocinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , la IL-6 y de proteínas reactivas de fase aguda tales como la PCR (Grundy *et al.*, 2005).

Durante mucho tiempo se consideró al TAdip un órgano usualmente pasivo, cuya única función era almacenar energía en forma de TG para ser cedida en tiempos de déficit energético (gluconeogénesis). Este tejido, lejos de ser un conjunto de células inertes, es capaz de generar cantidades elevadas de marcadores inflamatorios, como la PCR y las llamadas adipocitocinas (leptina, adiponectina, resistina, interleucinas y el TNF- $\alpha$ , entre otros). La existencia de estas citocinas asociadas a la obesidad demuestra la presencia de un componente inflamatorio crónico subyacente a ésta, y la tendencia al surgimiento

de diferentes factores de riesgo cardiovasculares o trombóticos observados en pacientes con SM (Gómez *et al.*, 2004; Ridker *et al.*, 2001).

Actualmente se reconoce que el exceso de TAdip, *per se*, no contribuye al establecimiento de estos factores de riesgo, sino la distribución de éste, al ser la grasa visceral abdominal la que se asocia con alteraciones importantes en el metabolismo de la glucosa y de la insulina, lo que no ocurre con la acumulación de grasa subcutánea (López y Casas, 2002).

El incremento de la grasa corporal, en la mayoría de pacientes diagnosticados con SM, se debe fundamentalmente, al aumento del tamaño de los adipocitos, sin embargo, el número de ellos, también puede aumentar particularmente en individuos obesos desde niños. El TAdip ubicado en la zona central (perímetro de cintura) posee mayor número de adipocitos por unidad de masa, exhibe circulación sanguínea superior y está más densamente innervado que el TAdip subcutáneo. El exceso de adiposidad abdominal, particularmente la grasa visceral, y el exceso de TG en el hígado, la musculatura esquelética y cardíaca, se asocian con aumento de la RI (González *et al.*, 2002; Brotons, 2006).

El perímetro abdominal medido en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca anterosuperior se correlaciona con la grasa abdominal, y aunque no discrimina adecuadamente la localización subcutánea y la visceral de la grasa, se asocia fuertemente con acumulación de grasa visceral, siendo considerado en la actualidad, un parámetro de medida imprescindible en la valoración del paciente con SM, independientemente del IMC, por que el aumento de la circunferencia se correlaciona específica y directamente con el contenido de grasa abdominal y en particular con el de grasa visceral (González *et al.*, 2002).

La ingesta excesiva de nutrientes puede promover aumento en los niveles de secreción de citocinas que conducen a inflamación crónica, favoreciendo la activación e infiltración de macrófagos maduros. El TNF- $\alpha$  estimula los preadipocitos y las células endoteliales a generar la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP 1: *Monocyte Chemoattractant Protein-1*), estimulando la infiltración de los macrófagos al TAdip, lo que induce secreción de citocinas y quimiocinas (Zulet *et al.*, 2007). Este patrón,

promovido por los adipocitos perpetua un círculo vicioso de reclutamiento de macrófagos y generación de citocinas inflamatorias, instaurando inflamación primaria local en el TAdip y posteriormente, estas citocinas secretadas podrían desencadenar aumento en la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado y conducir así, a inflamación sistémica de grado bajo observada en obesidad, la cual ha sido propuesta como nexo de unión con disfunciones asociadas como la RI, las dislipemias y las complicaciones vasculares y hepáticas conduciendo al denominado “Síndrome Metabólico” (Gómez *et al.*, 2004).

La PCR-us y su relación con adiposidad está sustentada en numerosos estudios realizadas en adultos demostrándose que en sujetos obesos y con sobrepeso existe un estado proinflamatorio. En la actualidad se postula que concentraciones superiores de PCR-us se deben a la mayor expresión de IL-6 o TNF- $\alpha$  en el TAdip intraabdominal. Esto explicaría la estrecha y significativa relación entre IMC y PCR-us, tanto en adultos como en niños con sobrepeso u obesos (Mendoza, 2007).

Con el objeto de determinar el rango en el cual fluctuaron los promedios de los parámetros estudiados de los pacientes con SM y sus controles, se utilizaron intervalos de confianza del 95% para la media poblacional (Tabla 2).

**Tabla 2. Intervalos de confianza del 95% para los promedios poblacionales del perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us, en pacientes con SM y controles. Bogotá DC. Colombia.**

Límites	SM	Controles
<b>Perímetro de cintura (cm) VR: <math>\leq 102</math> hombres y <math>\leq 88</math> mujeres</b>		
Inferior	121,5	83,5
Superior	126,5	87,1
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL) VR: 0 - 8,1</b>		
Inferior	5,7	3,8
Superior	9,9	4,7
<b>IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9</b>		
Inferior	7,6	3,8
Superior	8,3	4,5
<b>PCR-us (mg/dL) VR: <math>\leq 1</math></b>		
Inferior	4,5	0,3
Superior	5,5	0,6

Las confrontaciones de los resultados de los pacientes diagnosticados con SM y sus controles se realizaron mediante pruebas de hipótesis (*prueba t de student*) de comparaciones de medias poblacionales (valores *p* tabla 3 y 4) donde se pudo observar que existen diferencias significativas entre los parámetros valorados en los dos grupos. La elección de la prueba en cada caso se fundamentó en la prueba F de comparación de varianzas.

**Tabla 3. Valores *p* de la prueba t unilateral para dos muestras suponiendo varianzas iguales en la variable TNF- $\alpha$  en pacientes con SM y sus controles. Bogotá DC. Colombia.**

Variable	Valor <i>p</i>	Significancia
TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1	$2,7 \times 10^{-48}$	S*

\*S: significativo ( $p < 0,05$ )

**Tabla 4. Valores *p* de la prueba t unilateral para dos muestras suponiendo varianzas desiguales en las variables perímetro de cintura, IL-6 y la PCR-us en individuos con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.**

Variable	Valor <i>p</i>	Significancia
Perímetro de cintura (cm) VR: $\leq 102$ hombres y $\leq 88$ mujeres	$4,6 \times 10^{-59}$	S*
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	$7,3 \times 10^{-36}$	S
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$	$2,5 \times 10^{-33}$	S

\*S: significativo ( $p < 0,05$ ).

Los valores obtenidos de las pruebas unilaterales en los individuos con SM al confrontarlas con sus controles (Tabla 5) permiten aceptar la hipótesis alterna que afirma que en los individuos con SM existen promedios significativamente aumentados del

perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y la PCR-us en relación con los individuos sanos. Estos resultados fueron similares a los reportados por Gómez *et al.*, 2004.

**Tabla 5. Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico t de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en individuos con SM comparado con sus controles. Bogotá DC. Colombia**

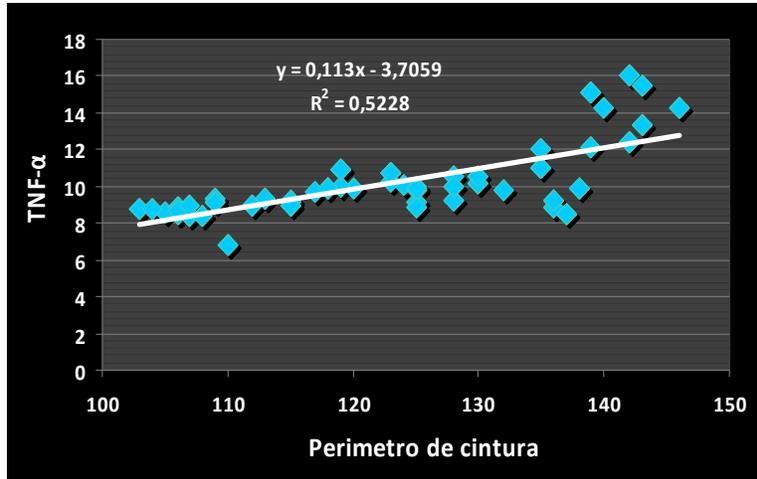
Parámetro	Valor tabulado	Estadístico t
Perímetro de cintura (cm) VR: $\leq 102$ hombres y $\leq 88$ mujeres	1,6	24,6
TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1	1,6	19,5
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	1,6	17,4
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$	1,7	17,8

Al analizar los valores del coeficiente de correlación de Pearson (r), coeficiente de determinación y valor  $p$  de la prueba de correlación lineal por pares de variables en los pacientes con SM muestra relación directa entre los marcadores proinflamatorios con el perímetro de cintura (Tabla 6, gráficas 3 a 8). En cada caso tanto el coeficiente de Pearson (valor que fluctúa entre -1,00 y 1,00) como el valor  $p$  de la prueba de correlación indican la significancia de la relación lineal encontrada. Al analizar los coeficientes de determinación se observa el porcentaje de relación entre las variables descritas.

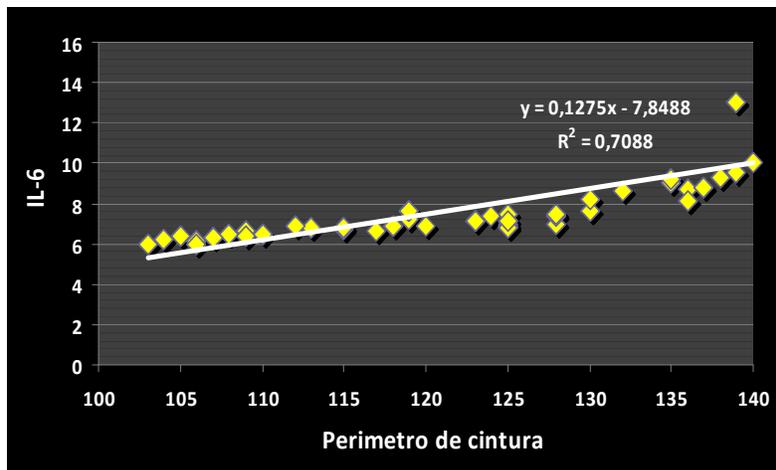
**Tabla 6. Correlaciones entre las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en individuos con SM. Bogotá DC. Colombia.**

Variables	Coeficiente de Pearson	Coeficiente de determinación	$p$
Perímetro de cintura vs TNF- $\alpha$	0,7	0,5	$1,9 \times 10^{-17}$
Perímetro de cintura vs IL-6	0,8	0,7	$5,3 \times 10^{-28}$
Perímetro de cintura vs PCR-us	0,9	0,8	$1,2 \times 10^{-34}$
TNF- $\alpha$ vs IL-6	0,8	0,7	$1,4 \times 10^{-28}$
TNF- $\alpha$ vs PCR-us	0,7	0,5	$4,8 \times 10^{-15}$
IL-6 vs PCR-us	0,9	0,8	$3,4 \times 10^{-32}$

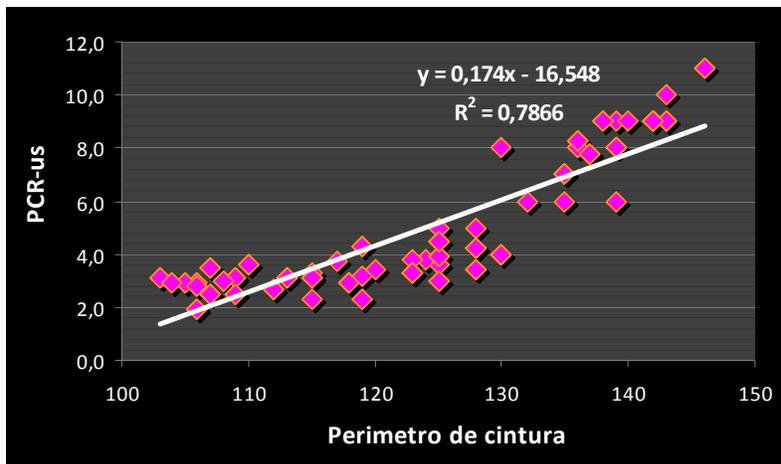
\*S: significativo ( $p < 0,05$ ).



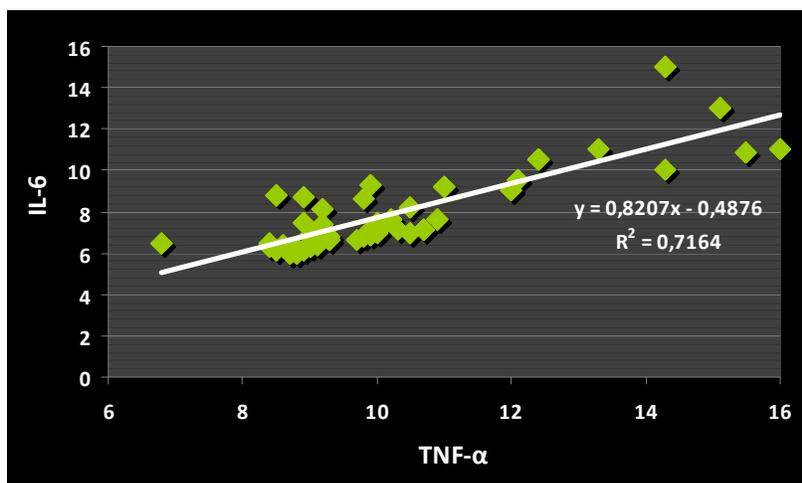
**Gráfica 3. Relación de las variables perímetro de cintura vs TNF-α en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.**



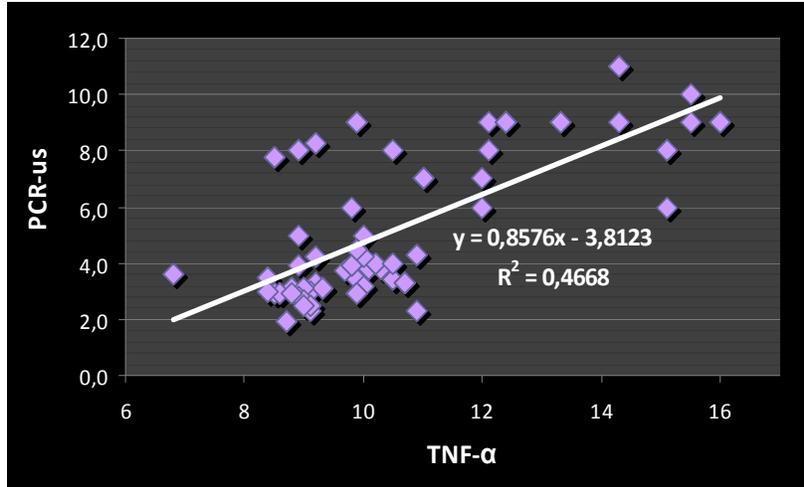
**Gráfica 4. Relación de las variables perímetro de cintura vs IL-6 en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.**



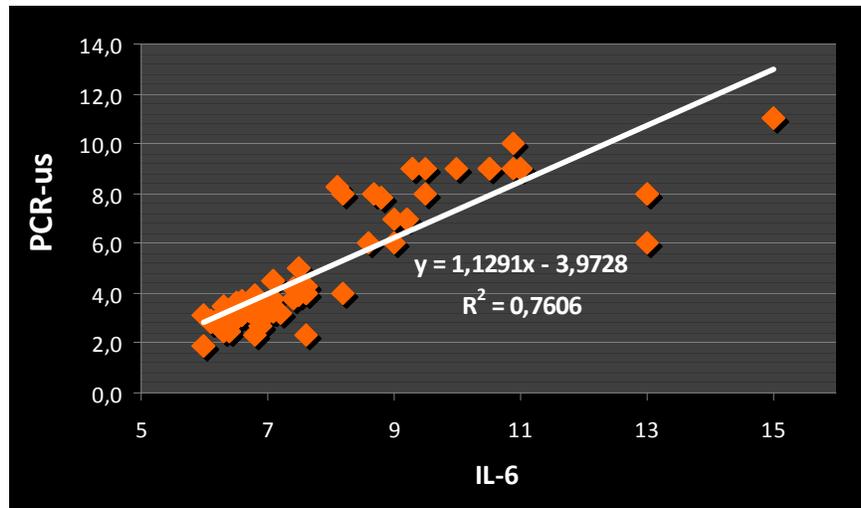
Gráfica 5. Relación de las variables perímetro de cintura vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.



Gráfica 6. Relaciones de las variables TNF-α vs IL-6 en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.



**Gráfica 7. Relación de las variables TNF-α vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.**



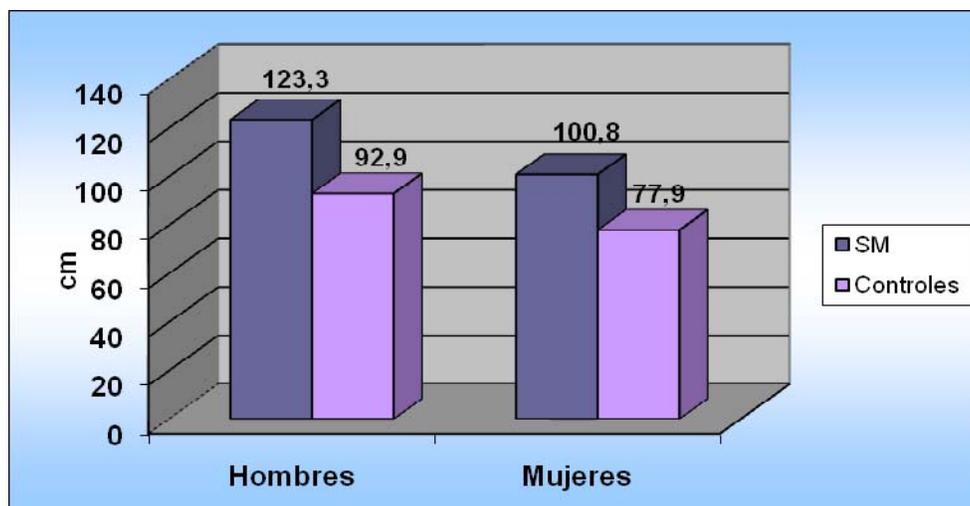
**Gráfica 8. Relación de las variables IL-6 vs PCR-us en pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.**

Los pacientes con SM, motivo de este estudio, fueron agrupados por género (Tabla 7, gráficas 9 a 11). Se encontró que las citocinas (TNF-α e IL-6), la PCR-us (marcadores de inflamación), y el perímetro de cintura indicador de adiposidad intraabdominal tuvieron comportamiento similar al observado en la población total. En las pruebas de comparación

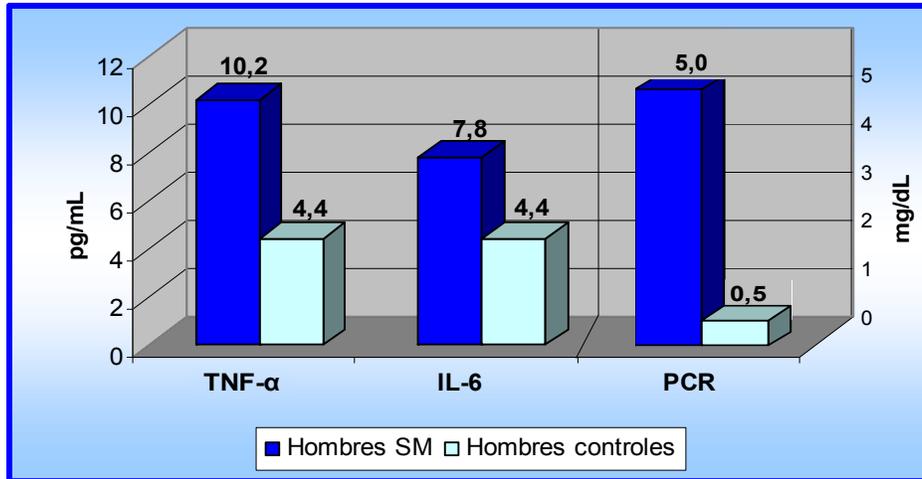
de medias poblacionales entre los individuos hombres con SM y sus controles, al igual que en las mujeres, se evidencian diferencias altamente significativas como lo corroboran los valores  $p$  (Tabla 8), valor tabulado y estadístico  $t$  (Tabla 9), infiriendo que los individuos con SM exhibieron promedios significativamente aumentados de las variables en estudio en relación con los sanos. Adicionalmente se realizaron intervalos de confianza del 95% (Tabla 10).

**Tabla 7. Valores promedio y desviaciones estándar de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en pacientes con SM y sus controles según género. Bogotá DC. Colombia.**

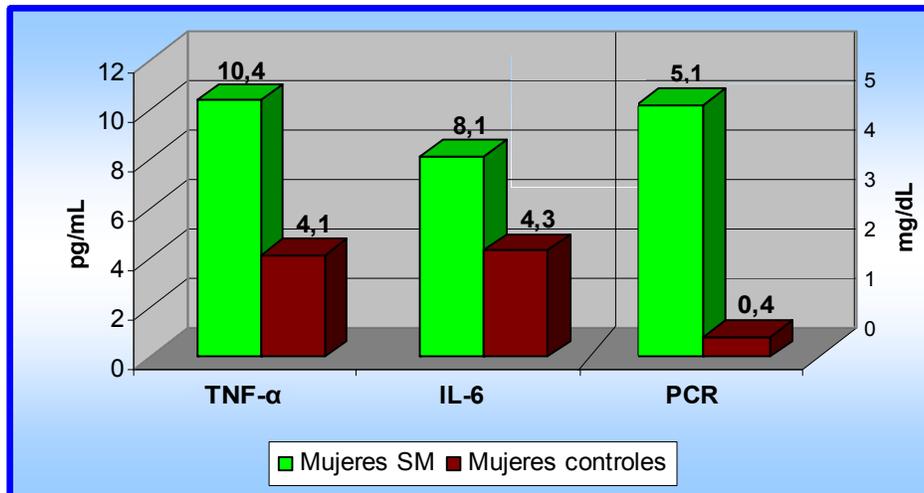
	Hombres		Mujeres	
	SM	Controles	SM	Controles
<b>Perímetro de cintura (cm) VR: <math>\leq 102</math> hombres y <math>\leq 88</math> mujeres</b>				
X	123,3	92,9	100,8	77,9
S	12,7	6,4	13,2	2,1
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL) VR: 0 - 8,1</b>				
X	10,2	4,4	10,4	4,1
S	2,0	1,5	2,1	1,2
<b>IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9</b>				
X	7,8	4,4	8,1	4,3
S	1,9	0,9	2,0	0,7
<b>PCR-us (mg/dL) VR: <math>\leq 1</math></b>				
X	5,0	0,52	5,1	0,4
S	1,5	0,18	1,5	0,1



**Gráfica 9. Promedio del perímetro de cintura (cm) de pacientes con SM agrupados por género y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.**



Gráfica 10. Promedio TNF- $\alpha$ , IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de pacientes hombres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.



Gráfica 11. Promedio TNF- $\alpha$ , IL-6 (pg/mL) y PCR-us (mg/dL) de mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.

Tabla 8. Valores *p* de las pruebas de comparación de las variables perímetro de cintura, IL-6 y la PCR-us en hombres y mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.

Parámetro	Hombres (SM vs. controles)		Mujeres (SM vs. controles)	
	Valor <i>p</i>	Significancia	Valor <i>p</i>	Significancia
Perímetro de cintura (cm) VR: ≤ 102 hombres y ≤ 88 mujeres	2,47x10 <sup>-24</sup>	S*	2,3 x10 <sup>-30</sup>	S
TNF-α (pg/mL) VR: 0 - 8,1	4,26X10 <sup>-23</sup>	S	9,03X10 <sup>-27</sup>	S
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	1,47x10 <sup>-18</sup>	S	9,32 x10 <sup>-19</sup>	S
PCR-us (mg/dL) VR: ≤1	5,12x10 <sup>-17</sup>	S	9,04 x10 <sup>-18</sup>	S

\*S: significativo (*p* < 0,05).

Tabla 9. Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico t en hombres y mujeres de las variables perímetro de cintura, TNF-α, IL-6 y PCR-us para los pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.

Parámetro	Hombres		Mujeres	
	Valor tabulado	Estadístico t	Valor tabulado	Estadístico t
Perímetro de cintura (cm) VR: ≤ 102 hombres y ≤ 88 mujeres	1,7	15,1	1,7	24,7
TNF-α (pg/mL) VR: 0 - 8,1	1,7	12,9	1,7	14,7
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	1,7	11,8	1,7	12,6
PCR-us (mg/dL) VR: ≤1	1,7	12,3	1,7	12,8

Tabla 10. Intervalos de confianza del 95%, para los promedios poblacionales de las variables perímetro de cintura, TNF-α, IL-6 y PCR-us en pacientes hombres y mujeres diagnosticados con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.

	Hombres		Mujeres			
	Límites	SM	Controles	Límites	SM	Controles
Perímetro de cintura (cm) VR: ≤ 102 hombres y ≤ 88 mujeres						
Inferior	119,8		91,0	Inferior	116,1	77,3
Superior	126,8		94,6	Superior	120,4	78,5

TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1					
Inferior	9,7	3,8	Inferior	8,8	3,5
Superior	10,7	5,1	Superior	9,9	4,7
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9					
Inferior	7,3	4,1	Inferior	6,5	3,8
Superior	8,3	4,6	Superior	7,6	4,4
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$					
Inferior	4,3	0,4	Inferior	3,9	0,3
Superior	5,7	0,6	Superior	4,7	0,5

Se aplicó la *prueba t de Student* (Tabla 11) sobre la diferencia de medias (cotejo de los parámetros poblacionales) con base a la prueba F de comparaciones para varianzas de dos muestras: hombres vs mujeres con SM, y sus respectivos controles. Se observó tendencia a resultados superiores del perímetro de cintura en los hombres, sin ser estadísticamente significativos ( $p > 0,05$ ), esto puede explicarse por el proceso metabólico que ocurre en estos individuos (predominio de la lipogénesis sobre la lipólisis). Estos hallazgos son similares a los publicados por López, *et al.*, (2007). Además, Zulet *et al.*, (2007) estudiando el proceso inflamatorio crónico de grado bajo en hombres y mujeres hallaron semejanza y concluyeron que este proceso no era inherente al género (Tabla 12). Lo anterior permite especular que el comportamiento de los elementos que participan en los procesos de inflamación característicos del SM, son dependientes de la condición e independiente del género, como indica las directrices establecidas por NCEP/ATPIII y otras asociaciones.

**Tabla 11. Valores  $p$  de las pruebas de comparación de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y la PCR-us en hombres y mujeres con SM y sus respectivos controles. Bogotá DC. Colombia.**

Parámetro	Hombres vs. Mujeres SM		Hombres vs. Mujeres controles	
	Valor p	Significancia	Valor p	Significancia
Perímetro de cintura (cm) VR: $\leq 102$ hombres $\leq 88$ mujeres	0,3	NS*	$4,6 \times 10^{-23}$	*S
TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1	0,3	NS	0,3	NS
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	0,2	NS	0,2	NS
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$	0,4	NS	0,06	NS

\*S: significativo ( $p < 0,05$ ). \*NS: no significativo ( $p > 0,05$ )

Tabla 12. Prueba unilateral. Valor tabulado y valor estadístico t en hombres y mujeres de las variables perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us para los pacientes con SM. Bogotá DC. Colombia.

Hombres SM vs. Mujeres SM		
Parámetro	Valor tabulado	Estadístico t
Perímetro de cintura (cm) VR: $\leq 102$ hombres, $\leq 88$ mujeres	1,7	- 0,6
TNF- $\alpha$ (pg/mL) VR: 0 - 8,1	1,7	- 0,4
IL-6 (pg/mL) VR: 3,4 - 5,9	1,7	- 0,7
PCR-us (mg/dL) VR: $\leq 1$	1,7	-0,2

Tabla 13. Consolidado descriptivo de la información obtenida con las muestras (medias y desviación estándar) en pacientes con SM y controles para las variables: perímetro de cintura, TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us. Bogotá DC. Colombia.

	Perímetro de cintura	TNF- $\alpha$	IL-6	PCR- us
<b>SM</b>	124,0 $\pm$ 12,9	10,3 $\pm$ 2,0	8,0 $\pm$ 2,0	5,0 $\pm$ 2,5
<b>Controles</b>	88,0 $\pm$ 6,9	4,3 $\pm$ 2,3	4,3 $\pm$ 0,8	0,5 $\pm$ 0,3
<b>Valor de referencia</b>	Hombres < 102 cm Mujeres < 88 cm	0 - 8,1 pg/mL	3,4 - 5,9 pg/mL	< 1 mg/dL

$p < 0,05$ .

## CONCLUSIONES

- Los pacientes diagnosticados con SM, mostraron incremento en las concentraciones de las citocinas (TNF- $\alpha$  e IL-6) y de la PCR-us al compararlos con controles sanos.
- La medida del perímetro de cintura (cm) exhibió aumento al compararlos con los controles, considerándose los valores referenciados por NCEP/ATP III. Este comportamiento va ligado al aumento del TAdip.
- Se observó que tanto hombres como mujeres tuvieron incremento similar de las concentraciones plasmáticas de TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us ante el síndrome metabólico en relación a la población general.
- El perímetro de cintura, intergénero mostró, que si bien, existió tendencia similar en todos los pacientes, en los hombres fue superior.
- El comportamiento de las variables TNF- $\alpha$ , IL-6 y PCR-us en los individuos diagnosticados con SM fueron similares a estudios realizados en otras latitudes y por diversos investigadores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, Abul K.; Lichtman Andrew H.; Pober Jordan S. 2004. *Inmunología Celular y Molecular*. 5ª Edición. Editorial Mc-Graw Hill. Cap 11: 243-274.
- Alberti, K.G.; Zimmet, P.; y Shaw, J. 2006. *Metabolic syndrome a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation*. Diabet Med; 23: 469- 480.
- Avogaro, P.; Crepaldi, G.; Enzi, G.; y Tengo, A. 1967. *Asociación de hiperlipidemia, diabetes mellitus y obesidad de grado medio*. Acta Diabetol Lat; 4: 36 -41.
- Bermudez, V.; Bermudez, F.; Arraiz, N. 2007. *Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución*. AVFT; 26: 76-86.
- Brotons, C. 2006. *Adiposidad intraabdominal y perímetro de cintura*. EL MEDICO IV: 52-9.
- Capelini, F.; Durazo, F. 2008. *La proteína C reactiva ultrasensible, un marcador de riesgo cardiovascular*. Rev Mex Patol Clin; 55: 55-58.
- Carvajal, H.; Salazar, M. 2008. *Síndrome metabólico: aspectos clínicos. Su tratamiento*. Tratado de Cardiología de la Federación Argentina de Cardiología. Sección hipertensión arterial; 1: 11.
- Carrillo Esper, R.; Sánchez Zúñiga, M.; Elizondo Argueta, S. 2006. *Síndrome metabólico*. Rev Fac Med UNAM; 49: 98-104.
- Crepaldi, G.; Maggi, S. 2006. *El síndrome metabólico: contexto histórico*. Diabetes Voice; 51: 8-10.
- Daskalopoulou, S.S.; Atrios, V.G.; Kolovou, G.D.; Anagnostopoulou, K.K.; Mikhailidis, D.P. 2006. *Definitions of methaboilic syndrome: Where are we now?* Curr Vasc Pharmacol; 4: 185-97.
- Del Álamo, A. 2008. [en línea]: *Síndrome metabólico*. Guías Clínicas; 8, 44. <<http://www.fisterra.com/guias2/Smetabolico.asp>> [Consulta: 27 sep.2008].
- Dinarello, AC. 2000. *Proinflammatory cytokines*. Chest; 118: 503-508.
- Du Clos, TW. 2000. *Function of C-reactive protein*. Ann Med; 32: 274-278.
- Duperly, J. 2005. *Sedentary vs. Active lifestyle in metabolic syndrome*. Acta Med Colomb; 30: 133-136.

Eckel, RH.; Grundy, SM.; Zimmet, PZ. 2005. *The metabolic syndrome*. Lancet; 365:1415-28.

Fudenberg, H.; Suites, D.; Caldwell, J.L.; Wello, J.V. 1980. *Análisis inmunoreactivo*. En: Fudenberg, H.; Suites, D.; Caldwell, J.L.; Wello, J.V. Manual de Inmunología Clínica. 2° ed. Manual Moderno; 401- 404.

García, E.; De la Llata, M.; Kaufer-Horwitz, M.; Tusié-Luna, MT.; Calzada-León, R.; Vázquez-Velázquez, V.; Barquera-Cervera, S.; Caballero-Romo, AJ.; Orozco, L.; Velázquez-Fernández, D.; Rosas-Peralta, M.; Barriguet-Meléndez, A.; Zacarías-Castillo, R.; Sotelo-Morales, J. 2008. *La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión*. Acta Pediatr Mex; 29:227-46.

Gómez-Fernández, P.; Lady, M.; Ruiz, A. *et al.* 2004. *Biomarcadores de inflamación vascular y aterosclerosis subclínica en el síndrome metabólico*. Med Clin; 123: 361-363.

González-Hita, M.; Bastidas-Ramírez, BE.; Ruiz-Madrugal, B.; Godínez, S.; Panderó, A. 2002. *Funciones endocrinas de la célula adiposa*. Rev Endocrinol Nutr; 10: 140-146.

Grundy, SM.; Cleeman, JI.; Daniels, SR.; Donato, KA.; Eckel, RH.; Franklin, BA *et al.* 2005. *Diagnosis and management of the metabolic syndrome*. An American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute Scientific Statement. Executive Summary. Circulation; 112: 2735- 2752.

Haller, H. 1977. *Epidemiologie und assoziierte Risikofaktoren der Hyperlipoproteinämie [Epidemiology and associated risk factors of hyperlipoproteinemia]*. Z Gesamte Inn Med; 32: 124 –128.

Himsworth, H.P. 1939. *The mechanism of diabetes mellitus*. Hum Diab Mellit; 2: 171-5.

Kahn, B.; Flier, J. 2000. *Obesity and insulíne resistance*. J Clin Invest; 106: 473-481.

Kiecolt-Glaser, J.; Preacher, JK.; MacCallum, CR.; Atkinson, C.; Malarkey, BW.; Glasier, R. 2003. *Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6*. PNAS; 100: 9090-9095.

Laclaustra, G.M.; Bergua Martínez, C.; Calleja, I.P.; Casasnovas Lenguas, J.A. 2005. *Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología*. Rev Esp Cardiol Supl; 5: 3-10.

Llorca, J.; González, M.; Sampedro, I.; García, MT; Berrazueta, J.R. 2002. *Reproducibilidad de los análisis de proteína C reactiva*. Rev Esp Cardiol; 55: 1101-1104.

Londoño de la Cuesta, J.L.; Alvarado, E.J.; Casas, J.V.; Rosella, D.A. 1993. *Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud resolución 008430*,

Ministerio de Salud, Dirección de Desarrollo Científico y Tecnológico, Santa Fé de Bogotá, D.C.

López, M.; Sosa, M.; Labrousse, N. 2007. *Síndrome metabólico*. Revista de Posgrado de la Vla Cátedra de Medicina; 174: 12-15.

Martínez, M.; Martínez, M.T.; Serrano, M. 2003. *Síndrome de resistencia a la insulina y síndrome metabólico: similitudes y diferencias*. *Síndrome metabólico: concepto, fisiopatología y epidemiología*. Cardiovascular Risk Factors I; 12: 89-95.

Masayoshi, T.; Satoshi, Y.; Yoritaka, O.; Isao, M.; Atsushi, M. 2006. *C-Reactive Protein and Cardiovascular Disease*. Rev. Circulation; 114: 253-254.

Mendoza, F. 2007. *Síndrome metabólico, tratamiento y riesgo de diabetes mellitus*. Acta Neurol Colomb; 23:77-89.

Mood, A.; Graybill, F.; Boes, D. 1980. *Introduction to theory of statistics*. Ed. Mc Graw Hill. New York.

Novo, G.; Corrado, E.; Moratori, I.; Tantillo, R.; Bellia, A.; Galluzzo, A.; Vitale, G.; Novo, S. 2006. *Markers of inflammation and prevalence of vascular disease in patient with metabolic syndrome*. International Angiology; 26: 312-317.

Pérez, A. 2005. *Biología de la pared vascular y síndrome metabólico*. Nutrición hospitalaria; 1: 5-17.

Pineda, C. 2008. *Síndrome metabólico: definición, historia, criterios*. Colomb Med; 39: 96-106.

Ramírez, C.; Martínez, G.; Lozano Nuevo, J.; Olvera Medel, A.; Higuera, L.; García, E. 2007. *Proteína C reactiva de alta afinidad como marcador inflamatorio*. Rev Alergia Mex; 1: 7-13.

Recasens, M.; Ricart, W.; Fernández, J.M. 2004. *Obesidad e inflamación*. Rev med univ navarra; 48: 49-54.

Ridker, P.M. 2001. *High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease*. Circulation; 103: 1813-1818.

Ridker, PM. 2003. *Clinical Application of C-Reactive Protein for Cardiovascular Disease Detection and Prevention*. Circulation; 107: 363-369.

Ridker, PM.; Buring, J.E.; Cook, N.; Rifai, N. 2003. *C-Reactive Protein, the Metabolic Syndrome, and Risk of Incident Cardiovascular Events*. Journal of the American Heart Association; 107: 391-397.

Ridker, PM.; Rifai, N. 2006. *C-reactive protein and cardiovascular disease*. J Am Clin Nutr; 85: 244 –245.

Rodríguez, A.; Sánchez, M.; Martínez, L. 2002. *Síndrome metabólico*. Rev Cubana Endocrinol; 13: 238-52.

Rutter, MK.; Meigs, JB.; Sullivan, LM.; D'Agostino, RB.; Wilson, PWF. 2004. *C-reactive protein, the metabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in the Framingham Offspring Study*. Circulation; 110: 380-385.

Singer, P. 1977. Zur Diagnostik der primären Hyperlipoproteinämien [Diagnosis of primary hyperlipoproteinemias]. Z Gesamte Inn Med; 32:129 –133.

Teramoto, T.; Sasaki, J.; Ueshima, H.; Egusa, G.; Kinoshita, M.; Shimamoto, K.; Daida, H.; Biro, S.; Hirobe, K.; Funahashi, T.; Yokote, K.; Yokode, M. 2008. *Metabolic Syndrome*. Rev. J Atheroscler Thomb; 15: 1-5.

Zulet, M.A.; Puchau, B.; Navarro, C.; Martí, A.; Martínez, A. 2007. *Biomarcadores del estado inflamatorio: nexo de unión con la obesidad y complicaciones asociadas*. Nutr Hosp; 22: 511-527.

## **ANEXOS**

### **ANEXO I**

#### **ASPECTOS ÉTICOS**

Los sujetos que harán parte del proyecto serán invitados a participar en el estudio y se obtendrá su consentimiento informado. Se les comunicara de manera detallada y clara, los objetivos y propósitos de la investigación, como también, los beneficios y riesgos en concordancia con la DECLARACION DE HELSINKI.

Las muestras de sangre se obtendrán por punción venosa. Este procedimiento no reviste ningún riesgo adicional para el individuo, excepto, la incomodidad ocasionada por la aguja cuando se obtiene la muestra y el posible efecto colateral de hematoma que puede generarse en algunos casos. Teniendo presente estas consideraciones, el paciente será informado de los posibles eventos adversos y el estudio se manejará de acuerdo a los aspectos éticos especificados en la resolución N° 008430 de 1993, TITULO II CAPITULO I (DE LOS ASPECTOS ETICOS DE LA INVESTIGACION EN SERES HUMANOS) del Ministerio de Protección Social.

## ANEXO II

### FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LOS SUJETOS PARA LA INVESTIGACIÓN

#### A. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

1. NOMBRE DEL PACIENTE \_\_\_\_\_
2. HISTORIA CLINICA No. \_\_\_\_\_

La Pontificia Universidad Javeriana va a realizar un estudio sobre el Síndrome Metabólico, entidad que agrupa una serie de manifestaciones clínicas, entre las que se destacan insulinoresistencia e hiperinsulinismo asociadas a trastornos del metabolismo de los carbohidratos, hipertensión arterial, alteraciones lipídicas (hipertrigliceridemia, descenso del cHDL) y obesidad, generándose amplia variedad de moléculas conocidas como adipocitocinas con efectos a distintos niveles en el organismo vinculadas con la inflamación, entre las que se encuentran la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral- alfa (TNF- $\alpha$ ) en concentraciones elevadas, así la proteína C reactiva (PCR).

A partir de la muestra de sangre obtenida se determinará la concentración de las citocinas anteriores y la PCR-us. Con el fin de conocer la fisiopatología del Síndrome metabólico y aportar conocimiento sobre este con el fin de realizar un diagnóstico oportuno beneficiando a los pacientes que lo padecen, al igual que los datos obtenidos sirven como avance en la investigación.

La participación en el estudio conlleva la realización de controles clínicos y analíticos (análisis de sangre). Los riesgos asociados a estos procedimientos son mínimos e infrecuentes. Generalmente produce pocas molestias (un pinchazo el análisis y el posible hematoma que se puede generar a causa de la sensibilidad de la piel).

La participación en este estudio es voluntaria y requiere su consentimiento expreso, que podrá retirar en cualquier momento sin necesidad de aducir razón alguna.

## **B. DECLARACIONES Y FIRMAS**

Yo, \_\_\_\_\_, declaro que:

He sido informado por el facultativo de forma comprensible de la naturaleza, finalidad, duración del estudio, así como de los procedimientos a realizar durante el mismo y los riesgos que estos implican.

Estoy satisfecho de la información recibida, he podido realizar todas las preguntas que he creído convenientes y me han aclarado todas las dudas planteadas.

Deseo manifestar que tengo conocimiento de las características de la investigación: **“RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE CITOCINAS FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA, INTERLEUCINA 6 (TNF- $\alpha$ , IL-6) Y LA PROTEINA C REACTIVA ULTRASENCIBLE (PCR-us) EN PACIENTES CON SINDROME METABOLICO”** y estoy de acuerdo en participar en el estudio.

En consecuencia presto voluntariamente mi consentimiento para participar en este estudio, sometiéndome a los exámenes de laboratorio pudiendo, no obstante, revocarlo en cualquier momento, avisando oportunamente a los investigadores sin expresión de causa.

---

Firma del Paciente

---

Documento de identificación

### ANEXO III

**FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS EN PACIENTES CON SÍNDROME METABÓLICO QUE PERTENECEN AL ESTUDIO: “RELACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE CITOCINAS FACTOR DE NECROSIS TUMORAL-ALFA, INTERLEUCINA 6 (TNF- $\alpha$ , IL-6) Y LA PROTEINA C REACTIVA ULTRASENSIBLE (PCR-us) EN PACIENTES CON SINDROME METABOLICO”**

Esta encuesta consta de preguntas acerca de antecedentes relacionados con el desarrollo del Síndrome Metabólico. Los datos suministrados serán de carácter estrictamente confidencial y de uso exclusivo en la presente investigación.

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**SERVICIO:** \_\_\_\_\_ **H.C:** \_\_\_\_\_

#### **INFORMACIÓN DEL PACIENTE**

- Nombre: \_\_\_\_\_
- Documento de identidad: \_\_\_\_\_
- Dirección y teléfono: \_\_\_\_\_
- E-mail: \_\_\_\_\_

1. Lugar y fecha de nacimiento:

Ciudad: \_\_\_\_\_ Día: \_\_\_\_\_ Mes: \_\_\_\_\_ Año: \_\_\_\_\_

2. Sexo:

Masculino: \_\_\_\_\_ Femenino: \_\_\_\_\_

#### **CONDICIONES FISIOLÓGICAS**

3. Peso: \_\_\_\_\_

4. Talla: \_\_\_\_\_

5. Presión arterial: \_\_\_\_\_

Coloque una X donde corresponda:

- |                                                         |           |           |
|---------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| ▪ Alguna vez un medico le ha diagnosticado:             | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
| a. Hipertensión arterial.....                           | —         | —         |
| b. Infarto de miocárdio.....                            | —         | —         |
| c. Aumento de colesterol o triglicéridos.....           | —         | —         |
| d. Cáncer.....                                          | —         | —         |
| e. Exceso de peso.....                                  | —         | —         |
| f. Bajo peso.....                                       | —         | —         |
| g. Hipotiroidismo o hipertiroidismo.....                | —         | —         |
| ▪ Le han formulado medicamentos para el tratamiento de: | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
| a. Hipertensión arterial.....                           | —         | —         |
| b. Infarto de miocárdio.....                            | —         | —         |
| c. Aumento de colesterol o triglicéridos.....           | —         | —         |
| d. Diabetes.....                                        | —         | —         |
| e. Cáncer.....                                          | —         | —         |
| f. Exceso de peso.....                                  | —         | —         |
| g. Bajo peso.....                                       | —         | —         |
| h. Hipotiroidismo o hipertiroidismo.....                | —         | —         |
| ▪ Ha seguido una dieta para el tratamiento de:          | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
| a. Hipertensión arterial.....                           | —         | —         |
| b. Infarto del miocardio.....                           | —         | —         |
| c. Aumento de colesterol o triglicéridos.....           | —         | —         |
| d. Diabetes.....                                        | —         | —         |
| e. Cáncer.....                                          | —         | —         |
| f. Exceso de peso.....                                  | —         | —         |

g. Bajo peso.....	—	—	
h. Hipotiroidismo o hipertiroidismo.....	—	—	
▪ A sus padres o abuelos les han diagnosticado:	<b>SI</b>	<b>NO</b>	<b>NO SABE</b>
a. Hipertensión arterial.....	—	—	—
b. Infarto del miocardio.....	—	—	—
c. Aumento de colesterol o triglicéridos.....	—	—	—
d. Diabetes.....	—	—	—
e. Cáncer.....	—	—	—
f. Exceso de peso.....	—	—	—
g. Bajo peso.....	—	—	—
h. Hipotiroidismo o hipertiroidismo.....	—	—	—

**ESTILO DE VIDA**

- ¿Cuántas horas en promedio duerme en la noche?
  - 6 horas o menos..... \_\_\_\_\_
  - 7 horas..... \_\_\_\_\_
  - 8 horas ó más..... \_\_\_\_\_
  
- En relación con el hábito de fumar, usted:
  - Dejó de fumar hace más de 10 años..... \_\_\_\_\_
  - Dejó de fumar hace menos de 10 años..... \_\_\_\_\_
  - Fuma en algunas ocasiones..... \_\_\_\_\_
  - Fuma todos los días..... \_\_\_\_\_
  
- En promedio cuántos cigarrillos fuma por día \_\_\_\_\_

- Se considera un fumador habitual? Entendiendo como fumador habitual a la persona que fuma o ha fumado a diario, independientemente de la cantidad y tipo de consumo, durante al menos los últimos 30 días.

Si..... \_\_\_\_\_

No..... \_\_\_\_\_

Su consumo de bebidas alcohólicas es:	Número de ml			
	<275	550	1100	> 1100
1 vez al día.....	_____	_____	_____	_____
3 veces por semana.....	_____	_____	_____	_____
1 vez por semana.....	_____	_____	_____	_____
1 vez al mes.....	_____	_____	_____	_____
Ocasionalmente.....	_____	_____	_____	_____
Nunca.....	_____	_____	_____	_____

- Desarrolla actividad física que le produzca sudor y/o cansancio

1 vez al día..... \_\_\_\_\_

3 veces por semana..... \_\_\_\_\_

1 vez por semana..... \_\_\_\_\_

Ocasionalmente..... \_\_\_\_\_

Nunca..... \_\_\_\_\_

- El tiempo que dedica al desarrollo de actividad física es de:

Menos de 30 minutos..... \_\_\_\_\_

Entre 30 y 60 minutos..... \_\_\_\_\_

Más de 60 minutos..... \_\_\_\_\_

Gracias por su colaboración