



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
“Calidad, Pertinencia y Calidez”
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

TRABAJO DE TITULACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA
FARMACÉUTICA

TEMA:

DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 EN PACIENTES DE TERAPIA
INTENSIVA DE LA CLÍNICA VILLAFLORES DE LA CIUDAD DE QUITO EN
EL MES DE DICIEMBRE 2013-ENERO 2014.

AUTORA

Rosa Virginia De la A García

TUTOR:

Dr. Segundo García Ledesma

MACHALA-EL ORO-ECUADOR

2013 - 2014

CERTIFICADO DE REVISIÓN

Dr. Segundo García Ledesma Docente de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, Carrera de Bioquímica y Farmacia, Tutor del presente Trabajo de Titulación “DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 EN PACIENTES DE TERAPIA INTENSIVA DE LA CLÍNICA VILLAFLORES DE LA CIUDAD DE QUITO EN EL MES DE DICIEMBRE 2013-ENERO 2014”, desarrollada por la Egresada Rosa Virginia De la A García, certifica que el presente trabajo fue elaborado por la autora en forma sistemática, ha sido revisado y se encuentra en sujeción a las normas establecidas para proyectos de investigación, por lo tanto autorizo su presentación.

Dr. Segundo García Ledesma

TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

CESIÓN DE DERECHO DE AUTORIA

Yo, Rosa Virginia de la A García, egresada de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, responsable del presente trabajo de titulación: “DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 EN PACIENTES DE TERAPIA INTENSIVA DE LA CLÍNICA VILLAFLORES DE LA CIUDAD DE QUITO EN EL MES DE DICIEMBRE 2013-ENERO 2014”, certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo, pertenecen exclusivamente a mi autoría una vez que ha sido aprobado por mi tribunal de sustentación autorizando su presentación.

Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mi derecho de autor a la Universidad Técnica de Machala para que ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

Egda. Rosa Virginia de la A García
0702691403

RESPONSABILIDAD

Yo, Rosa Virginia De la A García, autora del presente Trabajo de Titulación: “DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 EN PACIENTES DE TERAPIA INTENSIVA DE LA CLÍNICA VILLAFLORA DE LA CIUDAD DE QUITO EN EL MES DE DICIEMBRE 2013-ENERO 2014”, declaro que la responsabilidad de la investigación, resultados, conclusiones y hechos expuestos en la presente Tesis, corresponden exclusivamente a su autora.

Egda. Rosa Virginia De la A García

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mis padres Nicomedes de la A Figueroa y Vicenta García Asencio que con esfuerzo, constancia, amor y mucho sacrificio me brindaron la herencia más grande que se le puede dar a un hijo, la oportunidad de forjar un futuro y llegar a ser un profesional.

A mis hermanos queridos que están presentes en cada momento de mi vida y con quienes comparto mi alegría a quienes les debo el apoyo moral, el impulso y la dedicación en cada paso de mi vida.

A mí amado esposo que con paciencia, cariño, comprensión me brindo el apoyo necesario y en cuyo hombro me apoye y me sentí fortalecida para lograr mi objetivo, a mi bello hijo Jhostyn David por ser fuente de inspiración y felicidad en las etapas finales de mi carrera.

A cada uno de ellos les dedico mi esfuerzo y perseverancia por ser mi motor, mi castillo, mí fortaleza en el camino que elegí para forjar mi futuro profesional del cual hoy me siento muy orgullosa, de manera especial les dedico ese triunfo a mis seres queridos que hoy ya no están conmigo pero que de alguna manera los tengo siempre presentes en cada paso que doy.

Rosa De la A García

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi grato reconocimiento a mi querida UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme como profesional. A mis queridos maestros que durante 5 años me brindaron sus sabios consejos y de manera especial al Dr. Segundo García Ledesma Tutor de mi tesis quien sin interés alguno me guio con paciencia en el arduo camino hasta alcanzar mi objetivo.

Quiero agradecer a la Dra. Liliana Cortez, Dra. Kenya Ruíz y al Bioquímico farmacéutico Carlos García por su colaboración e interés en mi trabajo de investigación, al Sr José Vásquez por su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos, por ser el pilar fundamental de mi carrera universitaria, a mi bella familia que de una u otra manera estuvieron presentes para que alcance mi más caro anhelo.

Para cada uno de ellos mi más cálido agradecimiento.

Rosa De la A García

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
PROBLEMA.....	4
PROBLEMAS COMPLEMENTARIOS.....	4
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	5
HIPÓTESIS.....	6
VARIABLES.....	6
VARIABLE INDEPENDIENTE.....	6
VARIABLES DEPENDIENTES.....	6

CAPITULO I

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1 GENERALIDADES DE LA IL-6.....	7
1.2 FUNCIONES DE LA IL-6.....	8
1.3 PATOGENIA DE ARTRITIS REUMATOIDE.....	12
1.4 BASES DE UTILIDAD COMO OBJETIVO TERAPÉUTICO.....	14
1.5 ENFERMEDADES AUTOINMUNES ASOCIADAS.....	15
1.5.1 ARTRITIS REUMATOIDE.....	15
1.5.2 LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.....	16
1.5.3 ESPONDILOARTROPATÍAS.....	18
1.5.4 ARTRITIS IDIOPÁTICA JUVENIL.....	18
1.6 OSTEOPOROSIS.....	19
1.7 OTRAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....	19
1.8 TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA LA IL-6	19

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 TIPO DE ESTUDIO.....	22
2.2 UNIVERSO O POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	22
2.3 MUESTRA.....	22
2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	22
2.5 MATERIALES.....	23
2.5.1 EQUIPOS.....	23
2.5.2 REACTIVOS.....	23
2.5.3 PREPARACIÓN DE REACTIVOS.....	24
2.6 EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA.....	26
2.7 TÉCNICA.....	26
2.7.1 PRINCIPIOS DE ENSAYO.....	26
2.7.2 PROTOCOLO DE ENSAYO.....	27
2.8 VALORES NORMALES.....	28
2.9 RESULTADOS ESPERADOS.....	28

CAPITULO III

RESULTADO DE LA INVESTIGACIÓN

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43
ANEXOS.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Resultados de los valores de IL-6 en pacientes ingresados a U.C.I, de la clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

Valores de IL-6 de mujeres ingresadas en UCI. Valor Normal < 4,1 pg/ml.....29

Valores de IL-6 de varones ingresados en UCI. Valor Normal < 4,1 pg/ml.....30

CUADRO 2. Valores de Interleucina-6 elevados y normales.....31

CUADRO 3. Criterio médico de acuerdo a las patologías32

CUADRO 4. Cuadros patológicos susceptibles de ocasionar septicemia.....33

CUADRO 5. Médicos que solicitan el test de Interleucina-6.....35

CUADRO 6. Médicos que solicitan el test de Il-6 valorar pronósticos.....36

CUADRO 7. Otras patologías severas en las que el médico solicita Il-6.....37

CUADRO 8. Diferentes grupos de edades de los pacientes.....39

CUADRO 9. Valores de IL-6 según el grupo de edad, en pacientes.....40

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. Valores de IL-6.....	31
GRÁFICO 2. Patologías más señaladas como causa de septicemia.....	32
GRÁFICO 3. Patologías de septicemia en que pide IL-6.....	34
GRÁFICO 4. IL-6 para diagnóstico de septicemia.....	35
GRÁFICO 5. IL-6 para valorar pronóstico en UCI de septicemia.....	36
GRÁFICO 6. Otras patologías en que solicitan IL-6.....	38
GRÁFICO 7. Edad de pacientes en UCI.....	39
GRÁFICO 8. Valores de IL-6 según grupos de edad.....	40

RESUMEN

La investigación se realizó en el área de Cuidados Intensivos (UCI) de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en los meses de diciembre 2013-enero 2014, casa de salud que acoge pacientes con diversos tipos de patologías.

Se midió valores de IL-6 a 42 pacientes ingresados en UCI y se aplicó encuesta a los 10 médicos tratantes en dicha área, para conocer el uso de IL-6, identificar pacientes de UCI no controlados ni diagnosticados con IL-6 y monitorear la evolución de pacientes con patologías graves. Según la investigación hay 57% de pacientes de UCI con IL-6 alta por causa de septicemia, el 70% de médicos coincidieron que la neumonía es causa de septicemia, 40% la sepsis foco abdominal, 20% un foco urinario, meningitis y sepsis de partes blandas. El 50% de médicos solicita IL-6 para diagnóstico de septicemia en neumonía, en foco abdominal 30%, en meningitis y foco partes blandas 20%. El 60% de médicos no solicitan IL-6 para diagnóstico y pronóstico de septicemia. Se recomienda establecer en pacientes de UCI análisis periódicos de IL-6, que la totalidad de médicos usen IL-6 para diagnóstico, valoración y tratamiento, poner más énfasis en enfermedades con más ingresos a UCI, y en patologías más frecuentes por edad, que Clínicas y Hospitales con UCI tengan laboratorio funcional 24 horas al día, con equipos para medir citosinas como IL-6.

ABSTRACT

The research was conducted in the area of Intensive Care Unit (ICU) of Villaflora Clinic Quito in the months of December 2013 - January 2014, welcomes home health patients with various types of diseases.

Values I2L -6 was measured in 42 patients admitted to the ICU and survey was applied to the 10 attending physicians in that area , for the use of IL -6, identify ICU patients not controlled or diagnosed with IL -6 and monitor outcome of patients with serious diseases . According to research, 57 % of ICU patients with high IL-6 caused by septicemia, 70% of physicians concurred that causes pneumonia, septicemia, 40 % focus abdominal sepsis, and 20 % urinary focus, meningitis and sepsis soft tissue. 50% of doctors requesting IL-6 for diagnosis of sepsis in pneumonia, abdominal focus at 30 %, in soft tissue focus meningitis and 20 %. 60% of physicians do not seek IL- 6 for diagnosis and prognosis of septicemia. We recommend setting in ICU patients periodic analysis of IL -6, which all doctors to use IL - 6 for diagnosis, assessment and treatment , put more emphasis on diseases more ICU admissions , and most common diseases by age, Clinics and Hospitals with ICUs have functional laboratory 24 hours a day , with equipment to measure cytokines such as IL-6.

INTRODUCCIÓN

“La septicemia es un síndrome causado por el paso reiterado e importante de gérmenes patógenos a la sangre desde un foco séptico y que se caracteriza por signos generales que dejan en segundo plano el foco infeccioso inicial, y por localizaciones metastásicas” (FATTORUSSO, V. Vademécum Clínico 2001).

Los focos suelen ser de localización abdominal, de partes blandas, respiratorios, urinarios. Estas suelen ser razones de ingreso a cuidados intensivos, a lo que se suman otras causas, como son accidentes violentos, traumatismo craneoencefálico, heridas por armas de fuego o arma blanca, envenenamientos, fracturas de huesos largos, pancreatitis, obstrucción de vesícula biliar, etc. Estudios realizados demuestran que las citoquinas son importantes como agentes terapéuticos en numerosas enfermedades inmunitarias e inflamatorias.

Las citoquinas son moléculas de comunicación intercelular, en particular ejercen una acción muy importante en los mecanismos que producen la inflamación, sus acciones pueden ser autocrinas, paracrinas y endocrinas.

Su misión es mediar muchas de las funciones de las células encargadas de la inmunidad innata y adquirida, están involucradas en el desarrollo, crecimiento y activación de las células del sistema inmunológico y en la ejecución de la respuesta inflamatoria.

Por la severidad de estos casos se necesita de herramientas que faciliten el diagnóstico, la valoración y el pronóstico de ciertas patologías, por lo que se utilizan cada vez más las citoquinas o marcadores, entre las cuales encontramos una muy valiosa como es la Interleucina-6 (IL-6), también llamada Interleuquina-6.

PROBLEMA

Existen pacientes en área de cuidados intensivos de la Clínica Villaflora con septicemia, cáncer, disfunción miocárdica, artritis reumatoide u otras patologías graves que no están siendo monitoreados o seguidos en su evolución con marcadores biológicos específicos como la IL-6, marcador biológico importante pues su incremento se encuentra involucrado en la patogénesis de ciertos fenómenos asociados con sepsis grave y otras enfermedades críticas, como son la alteración del estado mental, anemia y fatiga, hiperglucemia, resistencia a la insulina, disfunción miocárdica, atrofia muscular esquelética, anorexia y caquexia del cáncer. Son estímulos para su síntesis y liberación las infecciones por ciertos microorganismos, particularmente virus y bacterias y la acción de otras citocinas, por lo que se puede decir que su incremento provoca y manifiesta gravedad de estos cuadros.

PROBLEMAS COMPLEMENTARIOS

1. El 70% de pacientes internados en la Clínica Villaflora en el área de cuidados intensivos por patologías graves, presentan valores sanguíneos altos de Interleucina-6.
2. Algunos médicos tratantes no utilizan los marcadores biológicos para establecer diagnósticos y controlar la evolución de septicemia, cáncer, disfunción miocárdica, artritis reumatoide u otras patologías graves.
3. No existe en la institución el equipo necesario para medir oportunamente la interleucina -6 en este tipo de pacientes.

OBJETIVO GENERAL

- Monitorear los pacientes ingresados en el área de cuidados intensivos de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en el mes de Diciembre 2013-enero 2014 que presentan septicemia, cáncer, disfunción miocárdica, artritis reumatoide, u otras patologías graves que no están siendo monitoreados en su evolución con interleucina -6 para su control y seguimiento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Valorar la IL-6 en pacientes internados en cuidados intensivos por patologías graves, que presentan valores sanguíneos altos de IL-6.
- Establecer el número de casos que no utilizan los marcadores biológicos para establecer diagnósticos y controlar la evolución de septicemia, cáncer, disfunción miocárdica, artritis reumatoide u otras patologías graves.
- Caracterizar la evolución de la Interleucina- 6 en pacientes de terapia intensiva de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito durante diciembre 2013-enero 2014.
- Caracterizar gnoseológica y metodológicamente las patologías graves.
- Caracterizar gnoseológica y metodológicamente la determinación de Interleucina 6.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Cuáles son las principales causas por las que se ingresan pacientes a cuidados intensivos?
- ¿Cuál es el comportamiento de los valores sanguíneos de marcadores tumorales como la interleucina -6 en pacientes ingresados en la sala de cuidados intensivos por patologías graves?
- ¿Es de utilidad medir los valores de interleucina -6 para la valoración y control de pacientes graves ingresados en cuidados intensivos?

- ¿A los pacientes de cuidados intensivos que presentan septicemia, cáncer, difusión miocárdica, artritis reumatoide u otras patologías graves se les está realizando controles periódicos de interleucina-6?

HIPÓTESIS

Si monitoreamos la evolución de los pacientes en cuidados intensivos de la clínica Villaflora a través de los valores sanguíneos de interleucina-6, mejorará sustancialmente la evolución de los mismos con este sistema de control.

VARIABLES

Se investigarán y analizarán la presencia de algunas variables en los resultados de la investigación, como son:

VARIABLE INDEPENDIENTE: que la constituye la presencia de IL-6 en la población estudiada.

VARIABLES DEPENDIENTES: que están constituidas por los resultados que se obtengan de los temas estudiados, pero agrupando esos resultados por edad, sexo, tipo de dieta, hábitos de ejercicio, gravedad de la patología.

CAPITULO I

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1 GENERALIDADES DE LA INTERLEUCINA-6

La Interleucina-6 (IL-6) es un marcador biológico, es una glucoproteína segregada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. “Interviene en la defensa contra las agresiones, en respuesta a la interacción con un antígeno, y regulan la intensidad de la respuesta inflamatoria o inmunitaria. La IL-6 está localizada en el cromosoma 7, su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF α . “La interleucina-6 (IL-6) es una proteína que en los humanos está codificada por el gen IL-6. IL-6 es una interleucina que actúa tanto como una citoquina pro-inflamatoria y anti-inflamatoria. Es secretada por las células T y los macrófagos para estimular la respuesta inmune a un trauma, especialmente quemaduras u otro daño tisular que conduce a la inflamación” (FATTORUSSO, V. Vademécum clínico 2001).

“Es importante el hecho de que no todos los marcadores señalan lo mismo. La interleucina 6 señala en general la magnitud del proceso inflamatorio, independientemente de si hay o no infección. Otros como la detección de endotoxinas o proteínas que ligan lipoproteínas, marcan la presencia de infección pero no la respuesta del enfermo infectado” (FATTORUSSO, V. Vademécum clínico 2001).

1.2 FUNCIONES DE LA IL-6

Esta citocina ejerce diferentes acciones hematológicas, inmunológicas, en el hígado, endocrinológicas y metabólicas. La IL-6 es la principal estimuladora de la producción de la mayoría de las proteínas de fase aguda, como, por ejemplo: proteína C-reactiva, amiloide sérico A, ceruloplasmina, haptoglobina, hemopexina, ferritina, algunas proteínas del sistema del complemento, diferentes proteínas de la cascada de la coagulación y del sistema fibrinolítico, etc. La IL-6 es, junto con IL-1, TNF- α e interferón gamma, un regulador importante de la termogénesis corporal y su papel como pirógeno endógeno está ampliamente demostrado. De hecho, se sabe que la IL-6 secretada en el tallo cerebral es indispensable para la producción de las etapas finales que conducen a la fiebre (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

“La intensidad de la fiebre y de otras manifestaciones patológicas guardan mejor relación con los niveles de IL-6 que con los de otras citocinas” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998), y además indica que: La IL-6 juega un papel importante en la patogénesis de la anemia de las enfermedades crónicas al inducir la producción hepática de hepcidina, que inhibe la absorción intestinal (duodenal) de hierro. Además, induce la expresión de ferritina, que promueve el almacenamiento y retención del hierro dentro de los Macrófagos. La IL-6 coestimula el crecimiento de diferentes colonias de precursores hematopoyéticos; promueve el crecimiento de colonias de granulocitos y macrófagos e interviene en la proliferación y maduración de la serie megacariocítica” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

En el sistema nervioso, la IL-6 es importante en la fisiología de la nocicepción y en la fisiopatología del dolor porque parece ser uno de los estimulantes más poderosos del eje hipotalámico-hipofisiario suprarrenal de los seres humanos. Su administración Subcutánea a voluntarios sanos lleva a una hipertrofia de las glándulas suprarrenales mediada por el aumento en la producción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) lo cual resulta en un incremento del nivel plasmático de cortisol y, a su vez, el cortisol

ejerce un control negativo sobre la secreción de IL-6. Asimismo, se ha demostrado que la administración de hidrocortisona y dexametasona atenúa la elevación de los niveles plasmáticos de IL-6 inducidos por el ejercicio (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

En el sistema inmune, la IL-6 promueve la diferenciación y maduración de linfocitos T y B, estimula la producción de inmunoglobulinas por parte de las células B, inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α y la IL-1. En este sentido, la IL-6 tiene acciones antiinflamatorias y, junto con el aumento en la producción del cortisol, ayuda a controlar la respuesta inflamatoria (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

La IL-6 se encuentra también involucrada en la patogénesis de ciertos fenómenos asociados con sepsis grave y otras enfermedades críticas, como, por ejemplo, alteración del estado mental y fatiga, hiperglucemia, resistencia a la insulina, disfunción miocárdica, atrofia muscular esquelética, anorexia y caquexia del cáncer. En pacientes sépticos, la concentración circulante elevada de IL-6 se correlaciona significativamente con un incremento en el riesgo de muerte (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

“En la sepsis, la producción de IL-1, TNF alfa, e IL-6 por parte de las células mononucleares, produce fiebre, proteólisis muscular, coagulación intravascular incontrolada y shock” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

La administración temprana y a dosis intermedias de un anticuerpo monoclonal anti-IL-6, mejora la supervivencia en modelos animales de sepsis inducida por la ligadura y perforación del ciego, “por lo tanto, existe un interés en el desarrollo de agentes anti-IL-6 como terapia contra muchas de estas enfermedades” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

“IL-6 puede ser secretada por los macrófagos en respuesta a moléculas microbianas específicas, conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

“Por último, evidencias recientes indican que IL-6 promueve el desarrollo de células T-ayudadoras. Dichas células producen la citocina IL-17, una citocina proinflamatoria que ayuda al reclutamiento de otras células del sistema inmune en los tejidos periféricos y ejerce un efecto patogénico en diferentes enfermedades autoinmunes”. Es un pirógeno endógeno que estimula en la hipófisis la producción de ACTH. Interviene en la producción de inmunoglobulinas,” juega un papel esencial en la diferenciación definitiva de las células B en células secretoras de Ig-implicados en la diferenciación de linfocitos y monocitos” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

También asevera que “actúa en la producción de células plasmáticas, modula la hematopoyesis y es la responsable, junto con la IL-1, de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado, en especial fibrinógeno. La interleucina 6 junto con la IL1 actúan con proteínas de la fase aguda, por esta razón aumenta el sedimento de eritrocitos. Es secretada Por las Células T y macrófagos para estimular la Respuesta inmune al trauma”.

“En el tejido muscular y graso IL-6 estimula la movilización de energía que conduce a una temperatura corporal elevada. IL-6 puede ser secretada por los macrófagos en respuesta a las moléculas microbianas específicas, conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Estos se unen a PAMPs grupo muy importante de moléculas de detección del sistema inmune innato, llamados receptores de reconocimiento de patrones (PRR), incluyendo receptores de tipo Toll (TLRs). Estos están presentes en la superficie celular y los compartimentos intracelulares e inducen cascadas de señalización intracelular que dan lugar a producción inflamatoria de citoquinas” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

“Uno de los efectos más estudiados de la biología ósea es el efecto osteoclastogénico de la IL-6, a través fundamentalmente de la inducción de RANKL en células de la estroma

y los osteoblastos. Por lo tanto, de forma similar a otras citoquinas, la IL-6 tiene potentes efectos sobre el remodelado óseo, con capacidad para producir osteoclastogénesis y erosiones locales. La mayoría de estos efectos han sido confirmados en modelos animales de artritis y en células humanas en cultivos” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

Los inhibidores de la IL-6 (incluyendo estrógenos) se utilizan para tratar osteoporosis posmenopáusica.

IL-6 es también producida por los adipocitos y se piensa que es una razón por qué las personas obesas tienen mayores niveles endógenos de PCR. En un estudio de 2009, administrado por vía intranasal IL-6 ha demostrado mejorar el sueño asociada a la consolidación de los recuerdos emocionales.

La interleucina-6 que se produce en el laboratorio se usa en el tratamiento de cáncer como modificador de la respuesta biológica para estimular el sistema inmunitario.

“La interleucina-6 es una citocina con muchas funciones biológicas. Algunas son pro inflamatorias mientras que otras son antiinflamatorias. Se encuentra implicada en la fisiopatología de diferentes enfermedades autoinmunes y en otras condiciones como la aterosclerosis y la osteoporosis. Se han descifrado en gran medida sus mecanismos de acción y de transducción de señales” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

El seguimiento y control de sus niveles sanguíneos permite tener una idea muy acertada de la evolución clínica de los pacientes afectados, así como establecer su pronóstico, por lo que no realizar controles de interleucina-6 en pacientes hospitalizados en áreas de cuidados intensivos en las patologías relacionadas, puede provocar errores en los tratamientos y criterios diagnósticos de la real situación de la salud de esos pacientes.

1.3 PATOGENIA DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

“La Artritis Reumatoide (AR) fue una de las primeras enfermedades inflamatorias en la que se describió un importante aumento de la expresión de IL-6, detectable tanto en el plasma como en el tejido sinovial. Muchas de las manifestaciones anatomopatológicas de la sinovial reumatoide se explican por los productos de secreción de los linfocitos T, los macrófagos y los fibroblastos, como son la IL-6, la IL-2, el Interferón, la IL-10, y otras citocinas” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

El aumento en el plasma fluctúa rápidamente en sentido concordante con la actividad, la severidad y la respuesta positiva a las terapias, del mismo modo que su marcador indirecto la PCR.

“Los principales efectos del aumento sistémico de la IL-6 en la AR son el aumento de los reactantes de fase aguda (RFA) y, por lo tanto, la amiloidosis secundaria (o SSA), la anemia de enfermedad crónica y posiblemente la osteoporosis sistémica y el incremento del riesgo vascular. En el tejido sinovial, tanto las células mononucleares del infiltrado como los fibroblastos sinoviales o sinoviocitos parecen contribuir a la síntesis excesiva de IL-6. La hiperplasia de los sinoviocitos, los efectos de las citoquinas TNF o IL-1 en ellos y finalmente una alteración fenotípica estable contribuyen a la sobreproducción de IL-6 por estas células, una propiedad que mantienen incluso cultivados en vivos.

Muchas de las células implicadas en la sinovitis (condrocitos, sinoviocitos, fibroblastos, endoteliales) no tienen el receptor IL-6R y, sin embargo, son sensibles a los efectos de la IL-6 mediante el mecanismo de traseñalización. Hay abundante IL-6 R soluble en el medio articular procedente de los leucocitos infiltrantes, lo que garantiza la acción de la IL-6 sobre todos estos elementos celulares. Los efectos locales o sistémicos de la IL-6 en las células del sistema inmunitario, las células B autoinmunitarias o diferentes poblaciones de células T son desconocidas en el contexto de la AR. Sin embargo sus funciones en estas células y su participación en los modelos animales de artritis son bien conocidas de manera general, de modo que es posible predecir teóricamente qué puede hacer la IL-6 en los linfocitos T o B participantes en la patogenia de la artritis

reumatoide. “La IL-6 es capaz de inducir crecimiento y supervivencia de las células plasmáticas e induce síntesis de anticuerpos, dos efectos que contribuyen local o sistémicamente al mantenimiento de la respuesta autoinmunitaria reumatoide” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

Los mecanismos efectores de la IL-6 en diferentes modelos de inflamación son bien conocidos. Los modelos animales permiten asegurar que la IL-6 no sólo es importante en los mecanismos de inmunorregulación que originan diferentes enfermedades autoinmunitarias, sino que es un importante efector de la inflamación crónica y destrucción tisular, de manera independiente de sus efectos en la autoinmunidad específica. Hay una teoría con base experimental que asocia la aparición de IL-6 en el foco inflamatorio con la inducción de quimioquinas como MCP-1 y otras moléculas de adhesión que cambian el ingreso de neutrófilos por el de células mononucleares, lo que los autores denominan la transición de inflamación aguda a crónica. Además de sus amplios efectos en el reclutamiento celular, actuando sobre la adhesión endotelial e induciendo la síntesis de diferentes quimioquinas, la IL-6 modifica la respuesta de las diferentes células que infiltran la sinovial como se describe a continuación (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998)

La IL-6 modula la respuesta de los linfocitos T y B infiltrantes del tejido sinovial. Otra célula importante del infiltrado local son los macrófagos. La actividad de la IL-6 sobre los macrófagos incluye: el reclutamiento de sus precursores, monocitos, y contribuye a su diferenciación y activación. En este proceso se produce también una activación de su capacidad de fagocitar bacterias, lo cual tiene implicaciones generales similares a los del TNF- α en relación de la defensa contra la infección.

Los efectos de la IL-6 en los fibroblastos sinoviales incluyen potenciales efectos en su crecimiento, aumentando su supervivencia, y efectos moduladores de la síntesis de otros factores fibroblásticos como quimiocinas, VEGF o RANK. De esta manera, puede contribuir a la inflamación crónica (reclutamiento celular y angiogénesis) y a la erosión ósea. Sus efectos directos en el cartílago son inciertos. Si bien, la IL-6 actúa sobre los condrocitos bloqueando la síntesis de proteínas de la matriz del cartílago, tiene efectos

de signo no siempre concordante en las diferentes metaloproteinasas o sus inhibidores, aumentando por ejemplo la síntesis del inhibidor tisular de metaloproteinasa. (TIMP). (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011)

1.4 BASES PARA SU UTILIDAD COMO OBJETIVO TERAPÉUTICO

“La IL-6 es producida por diversos tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células endoteliales, sinoviocitos, células de la glía, adipocitos y células epiteliales intestinales, entre otras. Los principales estímulos para su síntesis y liberación son las infecciones por ciertos microorganismos, particularmente virus y bacterias (lipopolisacárido bacteriano) y la acción de otras citocinas, como la IL-1, TNF- α y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011)

“La IL-6 junto con la IL-1son básicas para la activación específica de antígeno de los linfocitos T y B” (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998), las células epiteliales, los monocitos,macrófagos y los hepatocitos.

Es una citosina pluripotencial ya que tiene acciones tanto proinflamatorias como antiinflamatorias. En la actualidad se la reconoce como el principal mediador de la respuesta de fase aguda; también posee efectos antiinflamatorios al ejercer un control parcial sobre la producción de IL-1 y TNF- α . A diferencia de la IL-1 y el TNF- α , que poseen acciones proinflamatorias, los efectos de la IL-6 en la inmunidad dependen del contexto y de su concentración local, así como de la presencia o ausencia de otras proteínas reguladoras que actúan en la vía de transducción de señales, o de la concentración de su receptor soluble” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

1.5 ENFERMEDADES AUTOINMUNES ASOCIADAS

1.5.1 ARTRITIS REUMATOIDE

La inflamación es un proceso diseñado para combatir la infección o el daño tisular. Cuando es efectiva, la respuesta inflamatoria asegura la resolución exitosa de la situación y la restauración de la arquitectura tisular normal. Sin embargo, un control inapropiado de este mecanismo de defensa contribuye a la progresión hacia una enfermedad crónica (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

El papel que desempeña la IL-6 en la fisiopatología de la AR es muy importante. Ya hemos analizado previamente la gran cantidad de funciones proinflamatorias que posee esta citocina, todas de gran relevancia en la fisiopatología de la AR y del daño articular asociado; por esto es fácil comprender que las terapias dirigidas al bloqueo de estas propiedades flogísticas sean de sumo interés e importancia en la práctica, sobre todo cuando hasta 20%-40% de las personas con AR son refractarias a terapias potentes como los fármacos anti-TNF- α .

Las concentraciones de IL-6 y de otros miembros de la superfamilia de esta citosina en el líquido sinovial de pacientes con AR, se encuentran muy elevadas y se correlacionan directamente con la gravedad de la enfermedad. Como las concentraciones sistémicas de esta citocina también se encuentran elevadas, se ha sugerido que la determinación de IL-6 sirve como un marcador de la actividad de la enfermedad (HARRISON, T. Principios de medicina interna 1998).

“La emergencia del factor reumatoide, la elevación de reactantes de fase aguda, la disminución de la concentración de albúmina, la trombocitosis y la hipergamaglobulinemia son alteraciones encontradas en los pacientes con AR activa y que se pueden explicar fácilmente por el aumento no controlado de la producción de IL-6 en estas personas” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

“Nikolaisen y colaboradores demostraron una asociación significativa entre un nivel sérico alto de IL-6 y el desarrollo de anemia de enfermedad crónica en pacientes con AR. En ratones transgénicos que carecen de genes funcionales de IL-6 existe una resistencia a la inducción de artritis por antígenos a pesar de que expresan concentraciones normales de citocinas proinflamatorias como el TNF- α y la IL-1.

Al tratar a estos animales con inyecciones subcutáneas de IL-6 se les confiere susceptibilidad para el desarrollo de artritis inducida por antígeno, particularmente por albúmina bovina metilada. No solamente el nivel de IL-6 está aumentado en los pacientes con AR sino que, además, la concentración de IL-6R también se halla elevada. Como la cantidad de IL-6 es mayor en el líquido sinovial que en el suero, se sugiere que la fuente de esta sobreproducción es precisamente la cavidad articular.

Diferentes células presentes en la sinovia inflamada producen IL-6, entre ellas los fibroblastos, sinoviocitos, linfocitos, células endoteliales y monocitos. La IL-6 puede estar involucrada en la patogénesis de la osteoporosis yuxtarticular y del daño óseo y cartilaginoso de pacientes con AR. El tratamiento con anticuerpos monoclonales contra la IL-6 en ratas ovariectomizadas previene el desarrollo de osteoporosis. Además, debido a su acción sobre las células endoteliales y la inducción de la expresión de moléculas de adhesión intercelular, la IL-6 puede intervenir en el tráfico de células inflamatorias hacia la cavidad articular (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

1.5.2 LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Una función importante de la IL-6 entre los múltiples eventos implicados en la patogénesis del lupus, es que esta citocina promueve la maduración de las células B hacia células plasmáticas con la consecuente secreción de inmunoglobulinas. La evidencia sugiere un papel importante de la IL-6 en la hiperactividad del linfocito B. Los pacientes con lupus tienen niveles séricos de IL-6 aumentados los cuales se

correlacionan con la actividad de la enfermedad, la presencia de anticuerpos contra el ADN a títulos altos y la anemia. (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

“Los linfocitos B de pacientes con lupus tienen una anormalidad intrínseca en su respuesta a la IL-6. Las células B de personas normales no expresan de manera espontánea receptores para IL-6. Sin embargo, la mayoría de los linfocitos B de pacientes con lupus expresan en la superficie celular IL-6R de manera espontánea. La producción local de IL-6 se ha detectado en diferentes órganos afectados por la enfermedad; se destacan entre ellos el líquido cefalorraquídeo de pacientes con afección del sistema nervioso central, la orina de pacientes con afectación renal y la piel de personas con enfermedad cutánea” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

Saavedra también refiere que “un estudio que evaluó la concentración de IL-6 en el líquido cefalorraquídeo de 42 pacientes con lupus y manifestaciones neuropsiquiátricas encontró niveles significativamente elevados de esta citocina en comparación con otros pacientes con lupus sin manifestaciones de este tipo y también con respecto a pacientes afectados por otras condiciones no autoinmunes. Además, con el tratamiento exitoso de estas manifestaciones del sistema nervioso central, el nivel de IL-6 en el líquido cefalorraquídeo disminuye significativamente. Por último, en varios modelos murinos de lupus se ha informado una asociación entre el desarrollo de la enfermedad y niveles elevados de IL-6. El bloqueo de la IL-6 mejora el lupus murino e inhibe la producción de anti-dsADN. Por todo lo anterior es posible que el bloqueo de la IL-6 o de IL-6R pueda resultar en una estrategia terapéutica útil en pacientes con lupus” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011)

1.5.3 ESPONDILOARTROPATÍAS

“La inflamación en pacientes con espondilitis anquilosante (EA) está mediada en parte, por el TNF- α y por la IL-6. Concentraciones altas de estas citocinas se han encontrado en biopsias de articulaciones sacroilíacas de personas afectadas por esta condición. Visvanathan y colaboradores informaron la presencia de niveles séricos altos de IL-6 en aproximadamente el 50% de 279 pacientes con diagnóstico de EA activa, que cumplían con criterios para tratamiento con fármacos anti-TNF; estos niveles elevados de IL-6 se correlacionaban de manera significativa con los de la proteína C-reactiva.

Los pacientes con niveles altos de IL-6 presentaron un mayor grado de inflamación espinal detectado por medio de imágenes de resonancia magnética” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011)

1.5.4 ARTRITIS IDIOPÁTICA JUVENIL

“Este grupo heterogéneo de condiciones abarca todas las formas de artritis de etiología desconocida, con inicio antes de los 16 años y que persisten más allá de seis semanas.

Uno de los subtipos más notorios es la artritis idiopática juvenil sistémica, entidad que comparte muchas de sus manifestaciones clínicas y paraclínicas con la enfermedad de Still del adulto. Ambas cursan con fiebre, elevaciones marcadas de los reactantes de fase aguda (eritrosedimentación y proteína C-reactiva), hiperferritinemia, anemia y trombocitosis. Todas estas manifestaciones extrarticulares de la enfermedad se pueden explicar por una producción excesiva de IL-6. De hecho, diferentes estudios han informado concentraciones séricas de IL-6 muy elevadas en pacientes con esta forma sistémica de artritis idiopática juvenil. El nivel de IL-6 aumenta notoriamente durante los picos febriles y se correlacionan con la gravedad de la afectación articular y con el recuento de plaquetas. De igual modo, el nivel de IL-6 se encuentra elevado en el líquido sinovial de las articulaciones afectadas y es significativamente mayor que el

nivel observado en pacientes que sufren otras formas de artritis idiopática juvenil e incluso de pacientes adultos con AR. Se ha encontrado también una asociación entre polimorfismos del promotor del gen de IL-6 y la sobreproducción de tal citocina en niños con esta enfermedad” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

1.6 OSTEOPOROSIS

Durante la juventud, las mujeres están protegidas contra la osteoporosis debido a que cuentan con nivel suficiente de estrógenos. Los estrógenos tienen la capacidad de bloquear la síntesis de IL-6 por parte de los osteoblastos y de antagonizar los receptores de IL-6. La menopausia natural o quirúrgica (ooforectomía) resulta en un nivel elevado de IL-6, un incremento del ARN mensajero de IL-6 en las células óseas y aumento de la secreción de IL-6 por parte de las células mononucleares. Esto es de particular importancia porque la IL-6 estimula la osteoclastogénesis y la actividad de los osteoclastos. En enfermedades que cursan con recambio óseo rápido e hipercalcemia (la enfermedad de Paget y el mieloma múltiple) se han reportado niveles aumentados de IL-6 (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

1.7 OTRAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

La IL-6 puede estar implicada en la fisiopatología de otras enfermedades autoinmunes, entre ellas algunas vasculitis sistémicas como la arteritis de células gigantes y la arteritis de Takayasu, en las miopatías inflamatorias, la esclerodermia y la enfermedad de Still del adulto.

1.8 TERAPIAS DIRIGIDAS CONTRA LA IL-6

“Debido a que el receptor específico de IL-6 está presente de manera restringida solo en ciertos tipos celulares y a que la interacción de la forma soluble de este receptor con la gp130 es la encargada de inducir una respuesta activadora en una amplia variedad de

células, un objetivo promisorio para la manipulación terapéutica de las funciones proinflamatorias de esta citocina es, precisamente, el desarrollo de anticuerpos monoclonales contra el IL-6R. Esta terapia puede inhibir de manera efectiva las diversas acciones de la IL-6 por medio del bloqueo del receptor unido a la membrana, así como el bloqueo de la forma soluble existente en los diversos fluidos biológicos” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011)

En la actualidad se dispone para el uso clínico de un anticuerpo monoclonal con estas características de acción. Fue desarrollado por la industria farmacéutica japonesa y se ha probado con éxito en estudios preclínicos y estudios de fase II y fase III en pacientes afectados por AR. Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra IL-6R, que se une con alta afinidad a ambas formas de este receptor y puede inhibir las acciones de la IL-6 in vitro y en diversos modelos animales experimentales. Este anticuerpo, conocido como tocilizumab, se obtuvo por medio de la unión de las regiones determinantes de complementariedad de un anticuerpo murino anti-humano contra IL-6R con la IgG1 humana. En seres humanos se ha acumulado experiencia con esta molécula en el tratamiento de personas afectadas por enfermedad de Crohn, artritis idiopática juvenil y arteritis de Takayasu, aparte de su más amplia experiencia en pacientes con AR. En la actualidad su uso se encuentra aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos de América, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y por el Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) de Colombia, para el tratamiento de pacientes con AR activa.

Recientemente se ha publicado una revisión sistemática en la que se evaluaron la eficacia y la seguridad de tocilizumab según los resultados obtenidos en ocho estudios aleatorios controlados llevados a cabo en pacientes con AR. “Tocilizumab en la dosis aprobada (8 mg/kg intravenoso cada cuatro semanas) comparado con placebo con el uso concomitante de metotrexate o sin él, fue eficaz para disminuir la actividad de la enfermedad y mejorar la función y calidad de vida de los pacientes con AR. La eficacia fue mayor con el uso concomitante de metotrexate. La terapia con tocilizumab se asoció con un incremento en el nivel de colesterol y la aparición de eventos gastrointestinales

adversos e infecciones, pero no con complicaciones como infección grave, neumonía, tuberculosis o neoplasias” (SAAVEDRA, P. Interleucina-6 ¿amiga o enemiga? 2011).

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de la elevación de valores sanguíneos de IL-6 en pacientes ingresados en cuidados intensivos de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito.

Se realizó una investigación de campo mediante la aplicación de una encuesta de tipo cerrada y descriptiva a 10 médicos tratantes del área de cuidados intensivos para determinar la utilización de IL-6 para el tratamiento a los pacientes de cuidados intensivos, y para conocer las patologías que más provocan ingresos en esa área.

2.2 UNIVERSO O POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio la constituye todos los pacientes que ingresan al área de cuidados intensivos de la clínica Villaflora de la ciudad de Quito.

2.3 MUESTRA

Pacientes del área de cuidados intensivos de la clínica Villaflora de la ciudad de Quito durante diciembre 2013 a enero 2014.

2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los pacientes del área de cuidados intensivos y médicos tratantes de la clínica Villaflora de la ciudad de Quito.

2.5 MATERIALES

- Pipetas graduadas de 5 mL y 10 mL
- Micropipetas monocanales de 5 μ L a 1000 μ L.
- Micropipetas multicanales de 50 μ L a 300 μ L.
- Depósito para micropipetas multicanales
- Vasos de precipitado.
- Matraz.
- Probeta.
- Frasco lavador, sistema automatizado o semi-automatizado de lavado de placas de microtitulación.
- Agua bidestilada o deionizada en un recipiente de vidrio.

2.5.1 EQUIPOS

- Microelisa
- Centrifuga.
- Fotómetro para placas de microtitulación capaz de leer absorbancias a 450 nm. (Opcional: 620 nm longitud de onda de referencia).

2.5.2 REACTIVOS

- 1 Bolsa de aluminio con una Placa de Micropocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humana.
- 1 vial (100 μ L) de Conjugado de Biotina (anticuerpos monoclonales anti-IL-6 humana).
- 1 vial (150 μ L) con Estreptavidina-HRP.
- 1 viales de Estándar IL-6 humano liofilizado, 200 pg/mL después de la reconstitución.
- 1 vial (5 mL) de Solución Buffer de Ensayo Concentrado 20x

(PBS con 1 % de interpolación 20 y BSA al 10 %).

- 1 frasco (50 mL) de Solución Buffer de Lavado Concentrado 20x (PBS con 1 % de interpolación 20).
- 1 vial (15 mL) de Solución de Substrato (tetrametil-benzidina).
- 1 vial (15 mL) de Solución de Parada (1M Ácido Fosfórico).
- 2 láminas Adhesivas.

2.5.3 PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Solución Buffer de Lavado (1x)

Añadir 50 mL de la Solución Buffer de Lavado Concentrado (20x) a 950 mL de agua destilada.

Número de Tiras	Solución Buffer de Lavado	Agua Destilada
1 - 6	25 ml	47.5 ml

2. Solución Buffer de Ensayo

Añadir 5 mL **Solución Buffer de Ensayo Concentrada (20x)** a 95 mL de agua destilada.

Número de Tiras	Solución Buffer de ensayo concentrado	Agua Destilada
1 - 6	2.5 ml	47.5ml

3. Conjugado de Biotina

Hacer una dilución 1:100 del **Conjugado de Biotina** en la Solución Buffer de Ensayo (1x):

Número de Tiras	Conjugado de Biotina	Solución Buffer de ensayo
1 - 6	0.03 ml	2.97 ml

4. Estreptavidina-HRP

Hacer una dilución 1:200 del **Estreptavidina-HRP** en la Solución Buffer de Ensayo (1x):

Número de Tiras	Estreptavidina - HRP	Solución Buffer de Ensayo
1 - 6	0.03 ml	5.97 ml

5. Estándar IL-6 Humana

Reconstituir **el estándar** liofilizado **IL-6 humana** con agua destilada.
(El volumen de reconstitución se indica en la etiqueta del frasco estándar.)

6. Controles

Añadir 300 µL de agua destilada a los controles liofilizados.

2.6 EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

Se extrae una muestra de sangre venosa de los pacientes del estudio.

2.7 TÉCNICA

2.7.1 PRINCIPIO DE ENSAYO

- Los pocillos de la microplaca son recubiertos con anticuerpos anti-IL-6 humanos.
- La IL-6 humana presente en la muestra o el estándar se une a los anticuerpos adsorbidos en los micropocillos. Se agrega un anticuerpo anti-IL-6 humano conjugado a biotina que se une a la IL-6 humana capturada por los primeros anticuerpos. 1era Incubación.
- Después de la incubación se elimina el conjugado no unido mediante una etapa de lavado. Se agrega una solución de estreptavidina-peroxidasa de rábano que se une al conjugado de biotina anti IL-6. 2da incubación.
- Después de la incubación se elimina la estreptavidina-HRP no unida mediante una etapa de lavado y se agrega una solución de Substrato reactiva a Enzima Peroxidasa a los pocillos. 3era incubación.
- Se forma un producto de color proporcional a la cantidad de la IL-6 presente en la muestra o el estándar. La reacción es terminada por la adición de ácido y la absorbancia se mide a 450 nm. Se prepara una curva estándar a partir de 7 diluciones estándar de IL-6 y se determina la concentración de IL-6 humana en la muestra.

2.7.2 PROTOCOLO DE ENSAYO

1. Determinar el número requerido de tiras de la placa de microtitulación.
2. Lavar las tiras de la placa de microtitulación dos veces con Solución Buffer de Lavado.
3. Dilución estándar en la placa de microtitulación: Añadir 100 μL de Solución Buffer de Ensayo (1x), por duplicado, a todos los pocillos estándar. Pipetear 100 μL de estándar preparado en los primeros pocillos y crear diluciones estándar mediante la transferencia de 100 μL de pocillo a pocillo. Deseché 100 μL de los últimos pocillos.
4. Alternativamente dilución estándar externa en tubos. Pipetear 100 μL de estas diluciones estándares en las tiras de los micropocillos.
5. Añadir 100 μL de Solución Buffer de Ensayo (1x), por duplicado, a los pocillos blancos.
6. Añadir 50 μL de Solución Buffer de Ensayo (1x) a los pocillos de muestra.
7. Añadir 50 μL de muestras por duplicado a los pocillos respectivos.
8. Preparar el Conjugado de Biotina.
9. Añadir 50 μL de Conjugado de Biotina a todos los pocillos.
10. Cubrir las tiras e incubar 2 horas a temperatura ambiente (18-25 °C).
11. Preparar Estreptavidina-HRP.
12. Vaciar y lavar los pocillos 4 veces con Solución Buffer de Lavado.

13. Añadir 100 μL de la Solución de Substrato TMB a todos los pocillos.
14. Cubrir las tiras e incubar 1 hora a temperatura ambiente (18-25 $^{\circ}\text{C}$).
15. Vaciar y lavar los pocillos 4 veces con Solución Buffer de Lavado.
16. Añadir 100 μL de Solución Substrato TMB a todos los pocillos.
17. Incubar las tiras para aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente (18-25 $^{\circ}\text{C}$).
18. Añadir 100 μL de Solución de Parada a todos los pocillos.
19. Ajustar el fotómetro y medir la absorbancia a 450 nm. (50 μL de muestra, 50 μL de Solución Buffer de Ensayo (1x)), la concentración leída de la curva estándar debe ser multiplicada por el factor de dilución (x 2).

2.8 VALORES NORMALES

Valores menores a 4,1 pg/ml

2.9 RESULTADOS ESPERADOS

Comprobar que la determinación de los niveles de interleucina-6 es una herramienta útil para controlar y valorar a los pacientes de cuidados intensivos.

Llegar a establecer si la clínica Villaflora de Quito está equipada para realizar controles oportunos de interleucina -6 en pacientes de cuidados intensivos, para establecer en base a ello protocolos de control más eficaces para mejorar la atención de dichos pacientes.

CAPITULO III

RESULTADO DE LA INVESTIGACIÓN

CUADRO 1. Resultados de los valores de IL-6 en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

Valores de IL-6 de mujeres ingresadas en UCI. Valor Normal < 4,1 pg/ml

Pacientes	Edad	Sexo	Diagnóstico	IL-6 pg/ml
Rosa F. Mora Herrera	77	F	Fractura fémur derecho	1,00
Cruz Holanda Mero Pita	52	F	Neumonía grave	3,50
María e. Fiallos Almeida	36	F	Sepsis foco abdominal	2,90
Ana María Solís Solís	86	F	Sepsis foco urinario	106
Lenny Cedeño Vera	32	F	Amenaza parto prematuro	0,92
Lilian Chávez Aguilar	39	F	Amenaza parto prematuro	1,94
Ana Asimbaya Pastrano	47	F	Pie diabético infectado	171
Lauren Gallo Bonilla	41	F	Lupus eritematoso sistémico	22,9
María Sánchez Garcés	91	F	Trauma cráneo-encefálico	28
María Sánchez F.	57	F	Sepsis foco abdominal	497
Zoila Bastidas Jurado	82	F	Derrame pleural	20,3
Martha López Fuel	27	F	Neumonía	7,73
Rosa Parra López	92	F	Sepsis foco desconocido	33,4
Carmen Cárdenas Jactiva	70	F	Sepsis foco abdominal	2,88
Jenny Nacimba Tufiño	18	F	Intoxicación fósforo blanco	388
Lorena Toapanta Analuis	18	F	Infección herida quirúrgica	21,5
Maura Portilla Cárdenas	46	F	Accidente cerebro vascular	10,2
Rosa Topón Pachacama	42	F	Sepsis foco abdominal	7,6
Ruth Guerrero Tenorio	42	F	Pre eclampsia severa	73,8
María Rumipulla Jarro	71	F	Accidente cerebro-vasc.	1,94
Ela Esquivel García	80	F	Fractura fémur derecho	1,75

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

Valores de IL-6 de varones ingresados en UCI. Valor Normal < 4,1 pg/ml

Pacientes	Edad	Sexo	Diagnóstico	IL-6 pg/m
Luis Alfonso Larco Pinto	94	M	EPOC descompensada	7,9
Juan Carlos Oña Tipán	26	M	Neumonía	4,06
Edgar Sigcha Sánchez	27	M	Trauma facial severo	13,9
Franklin Guzmán Chacón	38	M	Trauma cráneo-encefálico	2,03
Segundo Guayllas Salinas	19	M	Trauma penetrante tórax	166
Juan P. Herrera Herrera	32	M	Trauma cráneo-encefálico	91,4
Jorge Lagos Chilibuina	65	M	Abdomen agudo peritonitis	5000
Juan Chávez Aguirre	34	M	Celulitis pie izquierdo	865
Bolívar Vargas José	72	M	Cirrosis hepática	2,0
Miguel Alarcón Jurado	76	M	Insuficiencia respiratoria	45
Cristóbal Villamarín S.	73	M	Sepsis foco abdominal	7,97
Armando Sánchez Erazo	25	M	Fractura fémur izquierdo	17,2
Hugo Germánico Endara	41	M	Infección herida quirúrgica	4,78
Eladio Cobos Tinoco	79	M	Accidente cerebro vascular	3,5
Walter Lazo Méndez	46	M	Fractura tibia y peroné	1,07
Amable Suarez Proaño	92	M	Neumonía	3,94
Edgar Guerrero Chandi	41	M	Neumonía	2,79
Luis Jiménez Raura	23	M	Sepsis foco abdominal	3,92
José Chisaguano Chilla	64	M	Sangrado várices esofágico.	3,98
Jonathan Pérez Móntense	23	M	Trauma cráneo-encefálico	0,96
David Ponce Pacheco	18	M	Trauma abdominal disparo	47,9

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

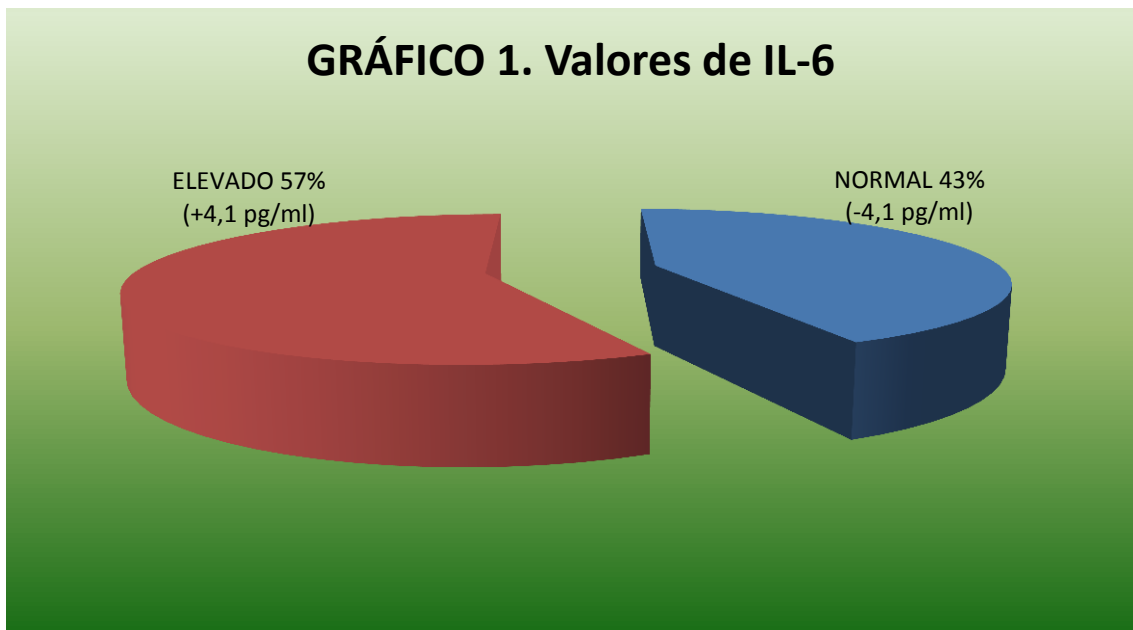
CUADRO 2. Valores de Interleucina-6 elevados y normales de pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

VALORES DE IL-6	NUMERO	PORCENTAJE
NORMAL < 4,1 pg/ml	18	43%
ELEVADO > 4,1 pg/ml	24	57%
TOTAL	42	100%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACION: En los resultados se observa que 24 pacientes que representan el 57% tuvieron por encima de lo normal la IL-6, los restantes 18, el 43%, presentaron valores normales.



CUADRO 3. Criterio médico de acuerdo a las patologías que con frecuencia provocan septicemia en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

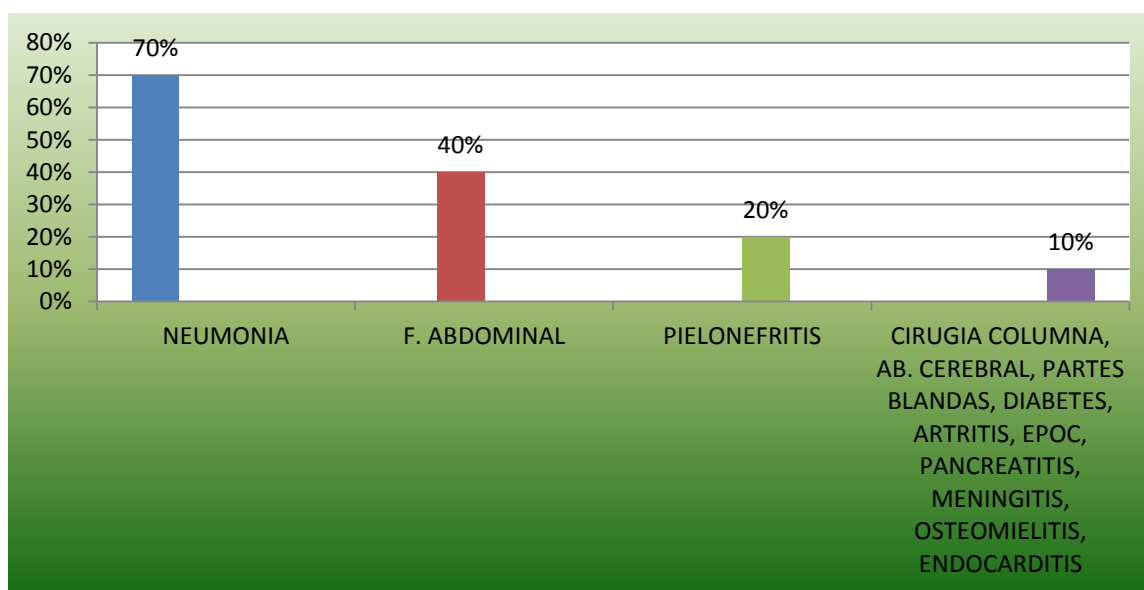
PATOLOGIA SEÑALADA POR LOS MEDICOS	Médicos que la señalan	%	Médicos que no la señalan	%
NEUMONIA	7	70%	3	30%
SEPSIS FOCO ABDOMINAL	4	40%	6	60%
PIELONEFRITIS	2	20%	8	80%
CIRUGIA COLUMNA, ABSCESO CEREBRAL, PARTES BLANDAS, DIABETES, ARTRITIS, EPOC, PANCREATITIS, MENINGITIS, ENDOCARDITIS.	1	10%	9	90%

FUENTE: Encuesta

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: En las respuestas observamos que 7 médicos, o sea el 70%, coincidieron en señalar la neumonía como causa de septicemia. 4 galenos que dan el 40%, señaló a la sepsis de foco abdominal y 2 médicos con el 20% a la pielonefritis.

Gráfico 2. Patologías más señaladas como causa de septicemia.



CUADRO 4. Cuadros patológicos susceptibles de ocasionar septicemia en los que los médicos solicitan examen para medir IL-6 en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

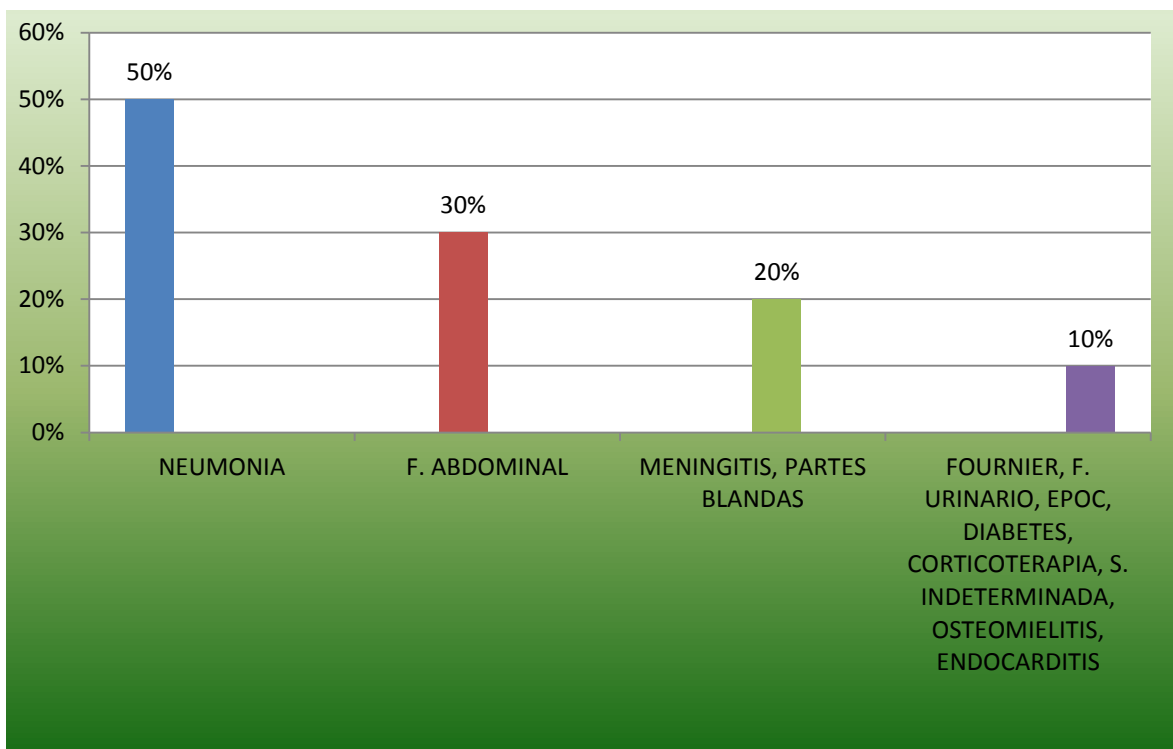
Patologías causantes de septicemia en que los médicos miden il-6	Médicos que piden IL-6	%	Médicos que no piden IL-6	%
NEUMONIA	5	50%	5	50%
SEPSIS FOCO ABDOMINAL	3	30%	7	70%
MENINGITIS,PARTES BLANDAS	2	20%	8	80%
FOURNIER, F. URINARIO, EPOC, ENDOCARDITIS,SEPSIS,OSTEOMIELITIS, DIABETES	1	10%	9	90%

FUENTE: Encuesta

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: Respecto de las patologías causantes de septicemia en las cuales se solicita IL-6 las que más fueron señaladas por los profesionales fueron: la neumonía por 5 médicos, el 50%. El foco abdominal lo mencionaron 3 galenos, que dan un 30%. La meningitis y el foco de partes blandas fueron nombradas por 2 médicos cada una, el 20%.

Gráfico 3. Patologías de septicemia en que pide IL-6.



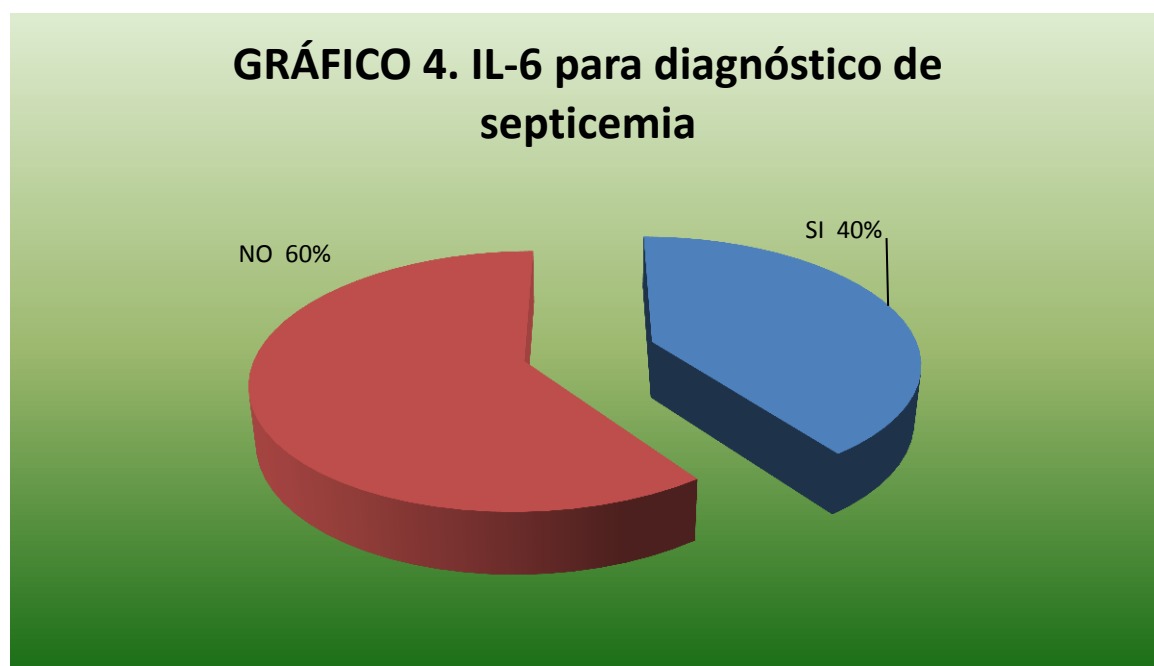
CUADRO 5. Médicos que solicitan el test de Interleucina-6 para certificar diagnóstico de septicemia en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

IL-6 PARA DIAGNOSTICO DE SEPTICEMIA	NUMERO	PORCENTAJE
SI	4	40%
NO	6	60%
TOTAL	10	100%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: Vemos que 6 encuestados, que dan un 60%, no solicitan el test de IL-6 para certificar o realizar sus diagnósticos en UCI.



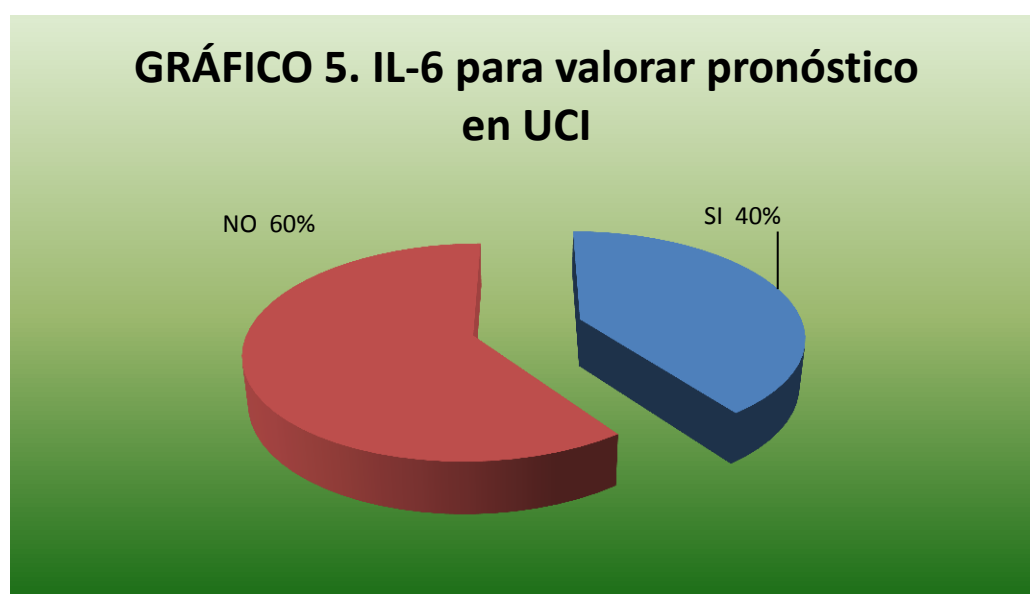
CUADRO 6. Médicos que solicitan el test de Interleucina-6 para valorar el pronóstico de pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

IL-6 PARA VALORAR PRONOSTICO DE PACIENTES	NUMERO	POCENTAJE
SI	4	40%
NO	6	60%
TOTAL	10	100%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: Según las respuestas de los profesionales encuestados, 6 de ellos, que representan el 60%, no piden el test de IL-6 para certificar o realizar sus valoraciones en UCI.



CUADRO 7. Otras patologías severas en las que el médico solicita Interleucina-6 en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

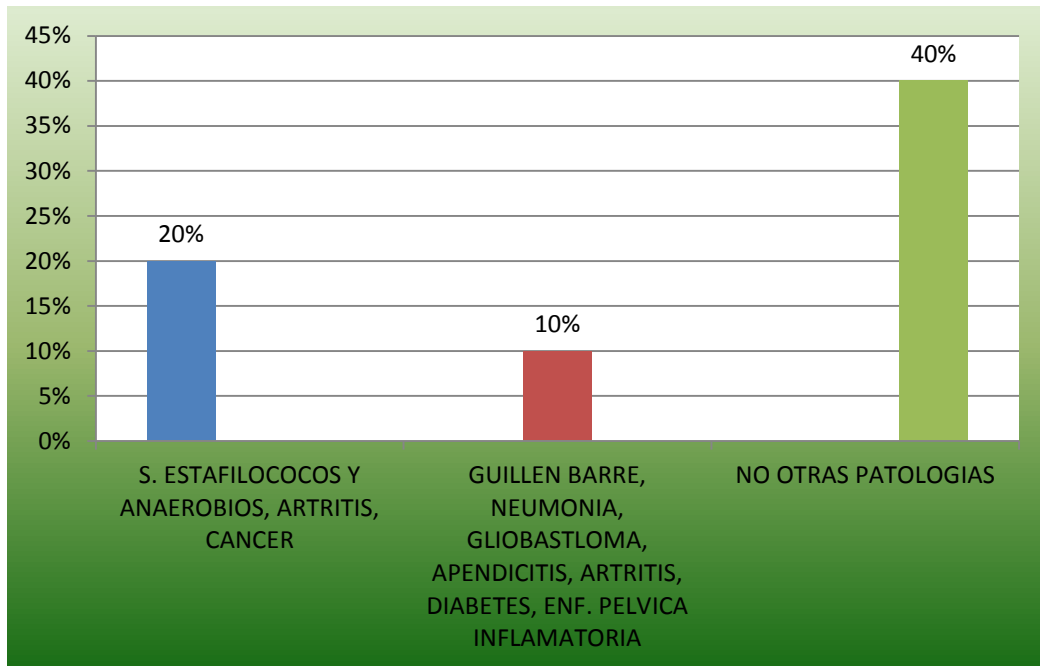
OTRAS PATOLOGIAS SEVERAS EN QUE SOLICITAN IL-6	NUMERO	PORCENTAJE
SEPSIS POR ESTAFILOCOCOS Y ANAEROBIOS, ARTRITIS, CANCER	2	20%
GULLEN BARRE, NEUMONIA, GLIOBLASTOMA, APENDICITIS, ARTRITIS, DIABETES, ENF. PELVICA INFLAMATORIA	1	10%
NO LO SOLICITA EN OTRAS PATOLOGIAS	4	40%
NO CONTESTA	3	30%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: De acuerdo a las respuestas se observa que 4 profesionales, que son el 40%, no hizo referencia a otras patologías aparte de las que habían mencionado, en que soliciten la prueba de IL-6. Otro 3, que dan el 30% no contestó.

GRÁFICO 6. Otras patologías en que solicitan IL-6



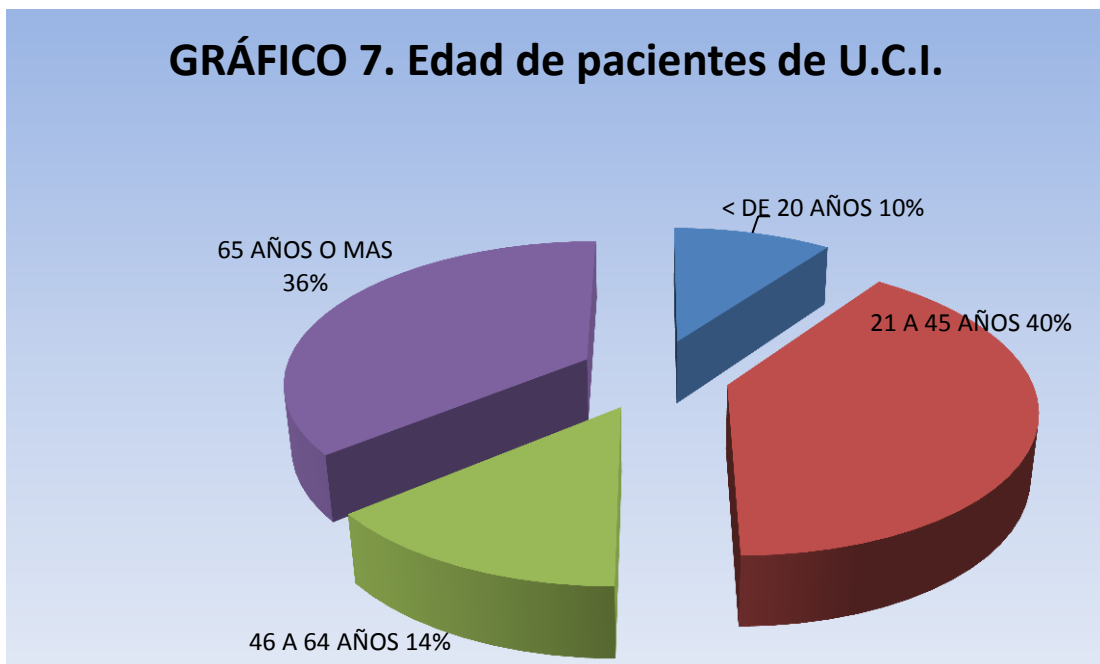
CUADRO 8. Diferentes grupos de edades de los pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

PACIENTES DE UCI POR GRUPOS DE EDAD	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE
MENOS DE 20 AÑOS	4	10%
DE 21 A 45 AÑOS	17	40%
DE 46 A 64 AÑOS	6	14%
DE 65 AÑOS O MAS	15	36%
TOTAL	42	100%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: Podemos ver en la tabla N° 1 que los grupos de edad que presentaron mayor número de pacientes en UCI son el grupo de 21 a 45 años con 17 pacientes que significa el 40%. El grupo de 65 años o más con 15 pacientes que representa el 36%. A continuación el grupo de 46 a 64 años con 6 pacientes, que comprende el 14%. Finalmente el grupo de menos de 20 años con 4 pacientes, que dan el 10%



CUADRO 9. Valores de IL-6 según el grupo de edad, en pacientes ingresados a U.C.I., de la Clínica Villaflora de la ciudad de Quito en diciembre 2013 a enero 2014.

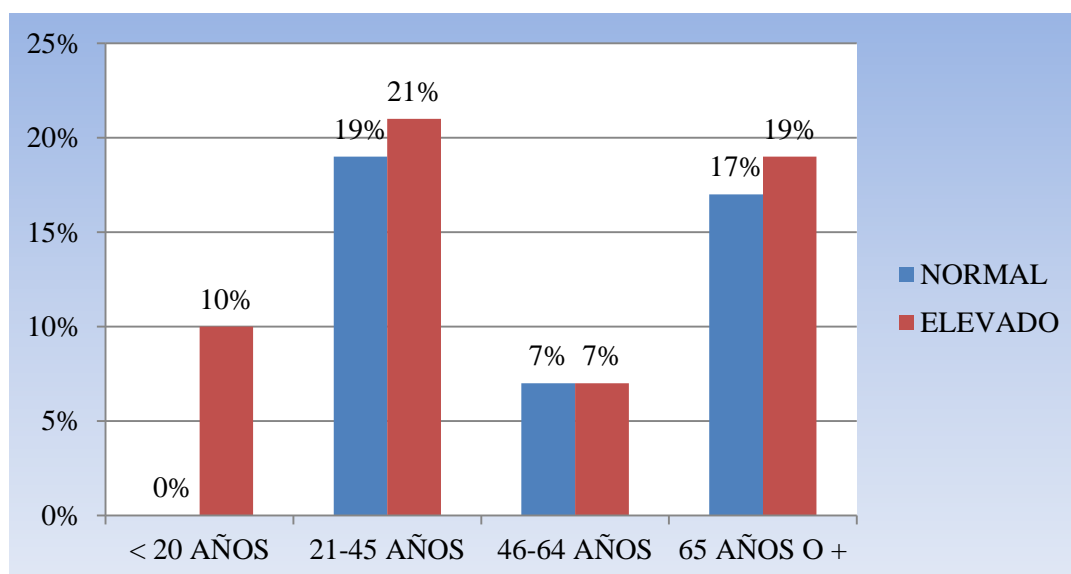
GRUPOS DE EDAD	IL-6 MENOR	%	IL-6 MAYOR 4,1	%
	4,1			
< DE 20 AÑOS	0	0%	4	10%
DE 21 A 45 AÑOS	8	19%	9	21%
DE 46 A 64 AÑOS	3	7%	3	7%
DE 65 AÑOS O MÁS	7	17%	8	19%
TOTAL	18	43%	24	57%

FUENTE: Investigación Trabajo de Campo

ELABORADO POR: Rosa de la A

INTERPRETACIÓN: Podemos observar que en la mayoría de los pacientes de UCI no presentan diferencia significativa en los valores de IL-6 dentro de los grupos de edad. El único grupo de edad en que presentaron todos los pacientes elevaciones de IL-6 por encima de los normal fue en los menores de 20 años.

GRÁFICO 8. Valores de IL-6 según grupos de edad.



CONCLUSIONES

1. Más de la mitad de los pacientes de UCI (57%) tuvieron elevado sus valores de IL-6, lo que demuestra que es una herramienta útil para el control de pacientes en esa área.
2. Las principales causas de septicemia según los médicos son: el 70% señala la neumonía como causa. El 40% a la sepsis de foco abdominal. Y el 20%, al foco urinario al igual que la meningitis y la sepsis de partes blandas. Por lo que resalta en estas patologías la importancia de pedir IL-6 desde el inicio para el diagnóstico.
3. El 50% de médicos solicita IL-6 para diagnosticar septicemia en casos de neumonía. En caso de foco abdominal lo solicitan un 30% de profesionales. En meningitis y foco de partes blandas piden la prueba el 20% de médicos.
4. Sólo el 40% de médicos solicita IL-6 para certificar el diagnóstico de septicemia y para valoración de pronóstico de pacientes con septicemia, por lo que esta herramienta no está siendo utilizada en su plenitud.
5. Los grupos de edad que presentaron mayor número de pacientes en UCI son el grupo de 21 a 45 años (40%) y el grupo de 65 años o más (36%), según las patologías más frecuentes para cada grupo de edad.
6. Dentro de cada grupo de edad de pacientes en UCI no hay diferencia significativa en los valores de IL-6, en cuanto a normalidad o elevación. El único grupo de edad en que todos presentaron elevación de IL-6 fue en menores de 20 años, siendo la razón el que casi todos estos pacientes ingresaron por hechos de violencia.

RECOMENDACIONES

1. Las clínicas que cuentan con servicio de Cuidados Intensivos deben establecer protocolos que determinen dentro de los procedimientos rutinarios para esos pacientes, la realización periódica de exámenes sanguíneos de IL-6.
2. Los protocolos de las instituciones deben establecer que la totalidad de los médicos tratantes utilicen la IL-6 para el diagnóstico, valoración y tratamiento de los pacientes ingresados en Cuidados Intensivos.
3. Deben poner más énfasis los protocolos médicos en las enfermedades que más ocasionan ingresos a Cuidados Intensivos, y también de las patologías que son más características según los grupos de edad, para el ingreso a Cuidados Intensivos.
4. Los laboratorios de las Clínicas o instituciones de salud que tienen implementada área de Cuidados Intensivos, deben contar con un laboratorio funcional las 24 horas del día, y con el equipo y reactivos necesarios para la medición de citocinas como la IL-6.

BIBLIOGRAFIA

1. BALCELLS, A. (1996) La Clínica y el Laboratorio, Editorial Masson. Barcelona, España.
2. DICCIONARIO DE MEDICINA OCEANO MOSBY
3. FATTORUSSO, V. (2001). Vademécum Clínico, Del Diagnóstico al Tratamiento. Editorial El Ateneo. España.
4. HARRISON, T. (1998). Principios de Medicina Interna. McGraw-Hill Interamericana. España.
5. HOLVEY, D. (1974). El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica. Merck Sharp &Dohme Research Laboratories. New Jersey, E.U.A.
6. AZNAR Eduardo-OROVAL. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Volumen 28, Issue 5, Pages 273-277
7. SAAVEDRA, P. (2011). Interleucina-6 ¿Amiga o enemiga?. IATREIA Vol. 24, págs. 157-162. Medellín, Colombia.
8. Albul K ABBAS-ANDREW H. Lichitman-JORDAN.S.Pober. (2002). Inmunología Celular y Molecular. Mc GRAW-HILL. INTERAMERICANA. España. 4ta Edición. pages 243-244-251-262.
9. <http://www.news-medical.net/health/Interleukin-6-What-is-Interleukin-6.aspx>
10. <http://www.news-medical.net/health/Interleukin-6-and-Disease.aspx>
11. http://www.ser.es/wiki/index.php/IL-6_en_la_Artritis_Reumatoide
12. <http://www.news-medical.net/?tag=/Interleukin-6>

13. http://www.aviscerabioscience.com/Product_Systems/IL6/IL6.html?gclid=CJT_5JPq2roCFUlp7AodQxAAcw

ANEXOS

ANEXO 1.

**UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

Encuesta dirigida a los médicos tratantes del área de cuidados intensivos de la Clínica
Villaflora de Quito.

Nombre.....Edad.....

1. Cuáles son las patologías que con más frecuencia provocan septicemia en sus pacientes ingresados en cuidados intensivos?

2. Existen cuadros patológicos susceptibles de ocasionar septicemia en los que solicita examen para medir valores de Interleucina-6, diga cuáles son?

3. Solicita usted pruebas de Interleucina-6 para certificar diagnósticos de septicemia?

Si..... no.....

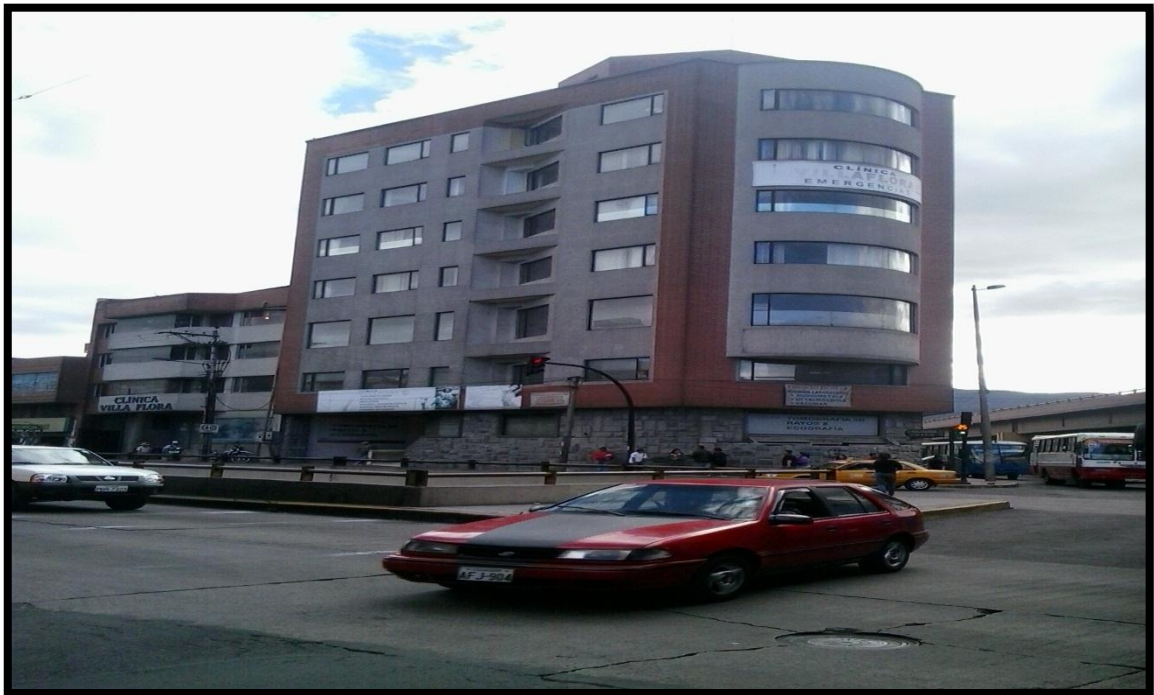
4. En los pacientes ingresados en cuidados intensivos solicita usted examen de Interleucina-6 para valorar su pronóstico?

Si..... no.....

5. En qué otras patologías severas solicita Interleucina-6?

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

ANEXO 2. Clínica Villaflora Vista Lateral



ANEXO 3. Clínica Villaflora Vista Frontal



ANEXO 4. Área de Cuidados Intensivos.



ANEXO 5. Toma De Muestras



ANEXO 6. Instalaciones y Equipos de Laboratorio





ANEXO 7. Procedimientos realizados



