

Interleucina 1 beta (IL-1 beta) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) en úlceras de decúbito tratadas con colágena-polivinilpirrolidona versus placebo

Interleukin 1-beta (IL-1 beta) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alfa) in pressure ulcers treated with collagen-polyvinylpyrrolidone versus placebo

Interleuzina 1 beta (IL-1 beta) eta alfa tumore nekrosiaren faktorea (TNF-alfa), kolageno-polivinilpirrolidonarekin versus plazeboarekin tratatutako etzanerako ultzeretan.

H. Mendieta-Zerón H (1), FE. Kröttsch-Gómez FE (2), RE. Hernández-Muñoz (3)

(1) Medicina Interna, Sanatorio "Toluca", Toluca, Mexico. Maestro en Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

(2) Connective Tissue Laboratory, División de Investigación Biomédica, CMN "20 de Noviembre", ISSSTE, Ciudad de México. Distrito Federal. EUM.

(3) Instituto de Fisiología Celular, UNAM, Mexico.

Resumen

Introducción: Existen diversas alternativas de tratamiento para las úlceras de decúbito pero no se especifica su modo de acción a nivel celular.

Objetivo: Medir en los exudados de úlceras de decúbito de dos grupos de pacientes con diferentes tratamientos los niveles de interleucina 1 beta y factor de necrosis tumoral alfa.

Material y métodos: Tipo de estudio: ensayo clínico, bicéntrico, prospectivo, comparativo, longitudinal. Variable dependiente: nivel de citocinas. Maniobra: aplicación de colágena-polivinilpirrolidona. El análisis estadístico fue con el programa SPSS 10.

Resultados: En el grupo placebo la interleucina 1 beta aumentó de 17.18 a 29.51 pg/mg y el factor de necrosis tumoral alfa aumentó de 47.23 a 56.75 pg/mg. En el grupo con colágena-polivinilpirrolidona, la interleucina 1 beta aumentó de 9.88 a 10.99 pg/mg y el factor de necrosis tumoral alfa disminuyó de 55.76 a 41.65 pg/mg.

Conclusiones: En ambos grupos aumentó interleucina 1 beta pero se encontró una franca disminución del factor de necrosis tumoral alfa en el grupo tratado con colágena-polivinilpirrolidona.

Palabras clave: cicatrización, clg-pvp, IL-1 beta, TNF-alfa.

Abstract

Introduction: There are many alternatives to treat pressure ulcers but their cellular action has not been elucidated

Objective: To compare the levels of interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alfa of the exudates in two groups of patients with different treatments.

Material and methods: Type of study: clinical, bicentric, prospective, comparative, longitudinal. Independent variable: collagen-polyvinylpyrrolidone. Statistical analysis was made with the SPSS 10 program.

Results: In the placebo group interleukin 1 beta increased from 17.18 to 29.51 pg/mg; tumor necrosis factor alfa increased from 47.23 to 56.75 pg/mg. In the collagen-polyvinylpyrrolidone group interleukin 1 beta increased from 9.88 to 10.99 pg/mg; tumor necrosis factor alfa decreased from 55.76 to 41.65 pg/mg.

Conclusions: In both groups interleukin 1 beta increased but tumor necrosis factor alfa diminished with collagen-polyvinylpyrrolidone.

Key words: clg-pvp, IL-1 beta, TNF-alfa, wound healing.

Laburpena

Sarrera: etzanerako ultzerak tratatzeko hainbat alternatiba daude, baina ez da zehazten nola eragiten duten zeluletan.

Helburua: etzanerako ultzeren exudatuetan interleuzina 1 beta eta alfa tumore nekrosiaren faktore mailak neurtzea, tratamendu desberdina duten bi gaixo talde aintzat hartuz.

Materiala eta metodoak: Ikerketa mota: saiakuntza klinikoa, bizentrikoa, prospektiboa, konparaziozkoa, longitudinala.

Mendeko aldagaia: zitozina maila. Maniobra: kolageno-polivinilpirrolidona aplikatzea. Azterketa estatistikoa SPSS 10 programarekin egin zen.

Emaitzak: plazebo taldean interleuzina 1 beta 17.18tik 29.51 pg/mg-ra areagotu zen, eta alfa tumore nekrosiaren faktorea 47.23tik 56.75 pg/mg-ra. Kolageno-polivinilpirrolidona taldean, berriz, interleuzina 1 beta 9.88tik 10.99 pg/mg-ra areagotu zen, eta alfa tumore nekrosiaren faktorea 55.76tik 41.65 pg/mg-ra gutxitu zen.

Ondorioak: interleuzina 1 beta bi taldeetan areagotu zen, baina kolageno-polivinilpirrolidonarekin tratatutako taldean alfa tumore nekrosiaren faktorea nabarmen gutxitu zen.

Hitz gakoak: zikatrizazioa, clg-pvp, IL-1 beta, TNF-alfa.

Correspondencia:

Hugo Mendieta-Zerón, MD.

Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Medicina, Departamento de Fisiología.

Rua San Francisco s/n. 15701 Santiago de Compostela. A Coruña. Galicia. España UE.

Tel: 981 582 658 ext. 12260

Correo electrónico: mezh_74@yahoo.com

Enviado: 05/05/06 Aceptado: 26/06/06

Introducción

Comparadas con las heridas agudas, las crónicas contienen niveles marcadamente elevados de citocinas proinflamatorias tales como interleucina 1 beta (IL-1 beta) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) así como de metaloproteinasas, mientras que los inhibidores de metaloproteinasas y la actividad de los factores de crecimiento están disminuidos (1).

No obstante que existen varios compuestos que se usan como matrices para facilitar la cicatrización, como polímeros, que pueden ser naturales (colágena, fibrina, alginato) (2) o sintéticos (ácido poliglicólico) (3), en México, el acceso a estos desarrollos es limitado, por lo que se debe insistir en la búsqueda de tratamientos más económicos e igualmente eficaces.

Por otra parte, la administración local de colágena-polivinilpirrolidona (clg-pvp) disminuye algunas citocinas proinflamatorias y fibrogénicas, como IL-1 β , TNF-alfa, PDGF, así como algunas moléculas de adhesión celular, como VCAM-1 y ELAM-1; por esta razón, se ha sugerido que debería tener una influencia positiva en el metabolismo de la colágena, favoreciendo una cicatrización ordenada (4).

Nuestro objetivo fue medir y comparar los niveles de IL-1 beta y TNF-alfa, en el exudado de úlceras de decúbito sometidas a dos tratamientos diferentes.

Material y métodos

Fue un ensayo clínico, bicéntrico, prospectivo, comparativo, longitudinal, en el cual se estudiaron pacientes geriátricos de los servicios de Medicina Interna del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", y del Hospital General "Dr. Darío Fernández Fierro", del ISSSTE; México, Distrito Federal (D.F.), en el periodo comprendido del 01 de marzo de 2003 al 28 de febrero de 2004. La variable dependiente fue el nivel de las citocinas y la maniobra fue la aplicación de clg-pvp. Para el reclutamiento y tratamiento de los pacientes se consideró la Declaración de Helsinki, con los siguientes criterios:

De inclusión: a) pacientes con úlceras de decúbito grado II a IV en la escala de Yarkony-Kirk, b) paciente geriátrico [edad a partir de los 65 años que es el límite que toma en cuenta el ISSSTE para este grupo etéreo, siendo importante recalcar que aproximadamente 70% de las úlceras de presión se desarrollan en personas mayores de 70 años de edad (5)], c) estabilidad hemodinámica: frecuencia cardíaca entre 50 y 99 latidos por minuto; presión arterial media entre 80 y 99 mmHg, frecuencia respiratoria entre 14 y 24 por minuto, y temperatura entre 36 y 39.9 grados centígrados (6).

De exclusión: a) haberse sometido previamente a tratamiento quirúrgico de las úlceras por presión, b) estado sép-

Tabla 1. Características de los pacientes

Grupo	Edad promedio \pm 1 DE	Género
Placebo	73,5 \pm (7.53)	M = 3 F = 7
Clg-pvp	75,2 \pm (9.33)	M = 4 F = 6

DE: desviación estándar; M: masculino; F: femenino; clg-pvp: colágena-polivinilpirrolidona

tico, c) apoyo mecánico ventilatorio, d) estado de coma o muerte cerebral, e) administración de esteroides, f) abandono familiar, g) diagnóstico de cualquier neoplasia con sobrevida media menor a 50% a los 6 meses, h) que su lugar de residencia sea fuera del Distrito Federal (D. F.).

De eliminación: a) rechazo del paciente a continuar en el estudio, b) que posterior a su estancia hospitalaria su lugar de residencia hubiera sido fuera del D. F.

Basándonos en la tabla de números aleatorios y el número de expediente, los pacientes fueron sometidos a dos tratamientos diferentes: 1) inyección de clg-pvp + cuidados convencionales de limpieza y movilidad, 2) inyección de placebo (solución fisiológica y polivinilpirrolidona) + cuidados convencionales de limpieza y movilidad.

Todos los días se movilizaba al paciente, además de limpiar las úlceras con agua y jabón. La inyección de clg-pvp o placebo fue intradérmica cada semana por un total de tres semanas.

Al inicio y al final del estudio, se limpió por la mañana la úlcera y se colocó un parche estéril sin gel (Bioclusive, Johnson & Johnson), para recolectar el exudado de 24 hrs. A la mañana siguiente se colocó al paciente en decúbito lateral y con una jeringa de 3 cc se recolectó el exudado; en caso de haber poco exudado se agregó solución salina (1 cc) y se recolectó la muestra en un tubo 1.5 cc para estudios enzimáticos. El tubo se puso en congelante y se almacenó después de centrifugar, en un congelador a -72°C en el laboratorio de investigación del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE. El tiempo entre la toma del exudado y su almacenamiento fue menor a una hora para evitar la degradación de las citocinas.

Por medio de ensayo inmunoenzimático de tipo ELISA (RandD Systems, Minneapolis MN, USA, sistema QuantikineIL-1b y sistema QuantikineTNF-a) se midieron en el exudado de las úlceras los niveles de IL-1 beta y TNF-alfa (picogramos de citocina por miligramo de proteína, pg/mg), para determinar si existía diferencia entre los pacientes tratados con clg-pvp y aquellos con placebo.

Resultados

En la tabla 1 se enlistan género, edad y grupo al que pertenecieron los pacientes involucrados en nuestro estudio, donde apreciamos que predominaron las mujeres con 13, sobre los hombres con 7.

Tabla 2. Datos de laboratorio del grupo con placebo

Número	Albúmina (mg/dL)	Hemoglo-bina (gr/dL)	IL-1 beta inicial (pg/mg)	IL-1 beta final (pg/mg)	TNF-alfa inicial (pg/mg)	TNF-alfa final (pg/mg)
1	2.35	10.2	2.34	3.13	0	102.53
2	2.9	17.1	0.5	2.29	7.93	21.77
3	2.8	10.6	4.38	98.29	0	0
4	2.7	18.5	eliminada	eliminada	eliminada	eliminada
5	2.2	10.3	1.8	3.51	287.31	270.32
6	2.2	11.8	8.21	3.36	0	0
7	1.63	12.3	3.4	2.48	0	0
8	2.2	11	eliminada	eliminada	eliminada	eliminada
9	1.8	8.7	11.37	11.86	82.63	59.43
10	2.6	9.1	126.12	111.2	0	0
Promedio ± 1 DE	2.33 ± (0.41)	11.96 ± (3.27)	17.18 ± (43.12)	29.51 ± (46.66)	47.23 ± (101.12)	56.75 ± (93.97)

IL-1 beta: interleucina 1 beta, TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa, DE: desviación estándar.

En cuanto a la distribución de género, en el grupo placebo fueron siete mujeres y en el de clg-pvp seis, con 3 y 4 hombres respectivamente, siendo diferencias mínimas. El promedio de edad fue muy similar, 73.5 años para el grupo de placebo y 75.2 para el de clg-pvp.

En el grupo placebo de dos pacientes se descartaron las muestras al no haberse mantenido en congelación, por lo que quedaron para el análisis 8 casos donde observamos que la IL-1 beta disminuyó en 3 y aumentó en 5. El TNF-alfa disminuyó en 2, permaneció en cero en 4 y aumentó en 2. (Tabla 2).

En el grupo de clg-pvp la IL-1 beta disminuyó en 5 y aumentó también en 5 casos. El TNF-alfa disminuyó en 4 casos, aumentó en 3 y se reportó en cero en dos casos (Tabla 3).

Discusión

Ya se han comparado los niveles de IL-1 beta y TNF-alfa en heridas, y piel sana, pero estas mediciones se reportaron en ratas (1).

En nuestro trabajo no se encontró diferencia significativa en la edad ni en los valores de albúmina y hemoglobina

entre el grupo tratado con placebo y el tratado con clg-pvp.

Es de llamar la atención que en el grupo placebo, los niveles de IL-1 β y TNF-alfa aumentaron 71.76% y 20.15%. En el grupo de clg-pvp los niveles de IL-1 β aumentaron 11.23% pero los de TNF-alfa disminuyeron 25.3%, aunque sin alcanzar diferencia estadísticamente significativa (p de 0.5 con prueba de Wilcoxon para dos muestras relacionadas). Para comentar más a profundidad lo relacionado con la calidad de la cicatrización lo más preciso hubiera sido comparar biopsias, pero esto no se consideró prudente en nuestro estudio al ser un procedimiento por medio del cual se retiraría una porción de un tejido difícilmente recuperado.

Es bien sabido que las curaciones son útiles para disminuir el tamaño de una úlcera de decúbito, pero no producen cambios benéficos significativos en la secreción de las dos citocinas que hemos evaluado. Por el contrario, con clg-pvp es clara la disminución de TNF-alfa, y el incremento de IL-1 β fue muy discreto en comparación de placebo, lo cual quizás nos muestra utilidad del producto para bloquear una secreción aumentada de esta citocina, tal y como sucede en las heridas crónicas.

Tomando como base que durante el proceso de cicatrización se requiere de interacciones epidermis-dermis que induzcan la diferenciación de queratinocitos, se ha

Tabla 3. Diámetros y datos de laboratorio del grupo con clg-pvp

Número	Albúmina (mg/dL)	Hemoglo-bina (gr/dL)	IL-1 beta inicial (pg/mg)	IL-1 beta final (pg/mg)	TNF-alfa inicial (pg/mg)	TNF-alfa final (pg/mg)
1	1.94	9.3	1.87	0	45.48	0
2	2.47	10.8	3.55	0.79	0	34.49
3	2.7	16.3	2.02	2.98	16.89	221.21
4	2.8	18	1.51	0	21.14	0
5	2.2	7.9	63.47	2.54	15.16	0
6	2.4	10	4.72	5.78	268.57	0
7	2.4	11.3	4.39	3.87	116.27	160.85
8	2.3	12	10.6	16.66	0	0
9	3	9	0	65.52	0	0
10	3	10	6.68	11.78	74.15	0
Promedio ± 1 DE	2.52 ± (0.34)	11.46 ± (3.24)	9.88 ± (19.07)	10.99 ± (19.9)	55.76 ± (88.53)	41.65 ± (80.72)

IL-1 beta: interleucina 1 beta, TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa, DE: desviación estándar.

demostrado en cultivo que para que esto suceda interviene el factor de crecimiento transformante (TGF), y que a su vez, dicha diferenciación es inhibida o bloqueada por la IL-1 (7). En heridas dérmicas producidas en humanos se ha demostrado una pronta expresión de IL-1, IL-6 y TNF, que disminuyen conforme avanza la cicatrización, pero pueden mantenerse expresadas en el tejido de granulación (8), esto explicaría que en los casos en los que obtuvimos cuantificación de cero de IL-1 beta y TNF-alfa en el exudado de las úlceras, nos hablaría de ausencia de tejido de granulación y por ende de un tejido con mínimas posibilidades de resarcir la solución de continuidad.

Ahora bien, en caso de enfermedad se estimula la producción de citocinas proinflamatorias, y éstas a su vez llegan a superficies expuestas como las úlceras de decúbito, por lo que tenemos el inconveniente de que pese a que tuviéramos una alternativa terapéutica eficaz para la cicatrización, los niveles de IL-1 beta y de TNF-alfa no disminuirían del todo.

No se puede pasar por alto que el tipo de población que desarrolla úlceras por presión tiene multiplicidad de factores en contra de una evolución favorable tales como desnutrición, abandono familiar, enfermedades crónico-degenerativas agregadas, etc. Con relación a las citocinas estudiadas quedan aún muchas funciones por investigar a la luz de los nuevos descubrimientos que se presentan todos los días (9) y con búsqueda de aplicaciones de los conocimientos adquiridos (10).

TNF-alfa parece clave en el cierre de las úlceras independientemente de los niveles de IL-1 beta pero es necesario llevar a cabo estudios con mayor número de pacientes y con más tiempo de seguimiento para evaluar con más

precisión los cambios en niveles de citocinas proinflamatorias.

Bibliografía

1. Chin C, Schultz GS, Bloch M, Edwards PD, Tebes S, Mast BA. Molecular and mechanistic validation of delayed healing rat wounds as a model for human chronic wounds. *Wound Rep Reg* 1999;7:486-494.
2. Ismarul IN, Ishak Y, Ismail Z, Mohd Shalihuddin WM. Characterization of collagen/chitosan films for skin regenerating scaffold. *Med J Malaysia* 2004;59(Suppl B):57-58.
3. Day RM, Boccaccini AR, Maquet V, Shurey S, Forbes A, Gabe SM, Jerome RJ. In vivo characterisation of a novel bioresorbable poly(lactide-co-glycolide) tubular foam scaffold for tissue engineering applications. *Mater Sci Mater Med* 2004;15(6):729-734.
4. Rodríguez-Calderón R, Furuzawa-Carballeda J, Corchado A, Kröttsch E. Collagen-polyvinylpyrrolidone promotes human wound healing through cytokine downmodulation. *Wound Rep Reg* 2001;9(2):166. (Abstract).
5. Norton D, McClaren R, Exton-Smith AN. An investigation of geriatric nursing problems in hospital. Edinburgh: Churchill-Livingstone; 1975. p. 193-236.
6. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, Sirio CA, et al. The APACHE III prognostic system. *Chest* 1991;100(6):1619-1636.
7. Shephard P, Martin G, Smola-Hess S, Brunner G, Krieg T, Smola H. Myofibroblast differentiation is induced in keratinocyte-fibroblast cocultures and is antagonistically regulated by endogenous transforming growth factor-beta and interleukin-1. *Am J Pathol* 2004;164(6):2055-2066.
8. Grellner W. Time-dependent immunohistochemical detection of proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) in human skin wounds. *Forensic Sci Int* 2002 4;130(2-3):90-96.
9. Crist SA, Elzey BD, Ludwig AT, Griffith TS, Staack JB, Lentz SR, Ratliff TL. Expression of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in megakaryocytes and platelets. *Exp Hematol* 2004;32(11):1073-1081.
10. Zhang X, Kohli M, Zhou Q, Graves DT, Amar S. Short- and long term effects of IL-1 and TNF antagonists on periodontal wound healing. *J Immunol* 2004;173(5):3514-23.