

## Artículo Original de Investigación

## Niveles plasmáticos de citocinas pro y anti inflamatorias como biomarcadores de diabetes mellitus tipo 2

## Plasma levels of pro- and anti-inflammatory cytokines as biomarkers of type 2 diabetes mellitus

Natali Valentina Payares<sup>1</sup>, Mónica Chávez Vivas<sup>2</sup>, Alfonsina del Cristo Martínez<sup>3</sup>, Antonio José Tascón<sup>4</sup>

1 Facultad de Ciencias de la Salud. Grupo de Investigación Microambiente Libre, Universidad Libre, Seccional Cali, Colombia. 2 Facultad de Ciencias de la Salud. Programa de Medicina. Grupo de Investigación GIMMEIN, Universidad Libre, Seccional Cali, Colombia. 3 Facultad de Ciencias de la Salud. Grupo de Investigación GIMMEIN, Universidad Libre, Seccional Cali, Colombia. 4 Facultad de Ciencias de la Salud. Programa de Medicina. Universidad Libre, Seccional Cali, Colombia. Unidad de Cuidados Intensivos. Clínica Versalles, Cali, Colombia.

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido el 7 de Febrero de 2022

Aceptado después de revisión el 13 de Abril de 2023

[www.revistafac.org.ar](http://www.revistafac.org.ar)

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Palabras clave:

Interleucina 4, interleucina 6, interleucina 10, interleucina 12, factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , diabetes mellitus tipo 2, biomarcadores.

## Keywords:

Interleukin 4, interleukin 6, interleukin 10, interleukin 12, tumor necrosis factor- $\alpha$ , type 2 diabetes mellitus, biomarkers

## RESUMEN

**Introducción:** La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es considerada una enfermedad crónica e inflamatoria de bajo grado, por lo que las acciones de las citoquinas son importantes en el desarrollo de la enfermedad. El objetivo fue evaluar los niveles plasmáticos de las citocinas IL-4, IL-6, IL-10 IL-12 y FNT- $\alpha$  como posibles biomarcadores de DM2 en pacientes del Programa Cardiovascular de una institución de salud en Cali.

**Materiales y métodos:** Se incluyó un total de 113 pacientes, de los cuales 33 eran diabéticos y 80 sin diagnóstico clínico de diabetes. Se realizó la medida de las concentraciones plasmáticas de IL 4, IL-6, IL-10, IL-12 y FNT- $\alpha$  y se estableció su asociación con los factores de riesgo de la enfermedad.

**Resultados:** La presión arterial alta (OR: 5,076; IC:1,831-14,084), edades entre 56 y 65 años (OR: 2,945; IC:1,168-7,42), dislipidemias (OR: 2,703;1,175-6,211), niveles altos de FNT- $\alpha$  (OR: 2,625; IC:1,135-6,072), IL-6 (OR:21,048; IC:7,470-59,306) e IL-12 (OR: 2,432; IC1,060-5,580) se relacionaron con mayor riesgo de diabetes. Sin embargo, en el análisis multivariado, sólo la IL-6 mantuvo asociación positiva con el riesgo de diabetes (OR=16,667; IC del 95%: 2,39-112,35; P<0,05) y fue un predictor independiente de DM2.

**Conclusión:** Los niveles más altos de las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-12 y el FNT- $\alpha$  en pacientes con DM2 en comparación con el grupo de control indican que el estado inflamatorio en pacientes diabéticos estaría jugando un papel importante en la patogenia de la DM2. El análisis multivariado demostró una asociación positiva entre el nivel plasmático de la IL-6 y la DM2, por lo que la medida de los niveles de esta citocina podría ayudar en la predicción de la enfermedad.

## Plasma levels of pro- and anti-inflammatory cytokines as biomarkers of type 2 diabetes mellitus

## ABSTRACT

**Introduction:** Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is considered a low-grade chronic and inflammatory disease, so the actions of cytokines are important in the development of the disease. Our objective was to evaluate the plasma levels of cytokines IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, and TNF- $\alpha$  as possible biomarkers of T2DM risk in patients of the Cardiovascular Program of a health institution in Cali.

**Materials and methods:** A total of 113 patients were included, of whom 33 were diabetics and 80 individuals without a clinical diagnosis of diabetes. Plasma concentrations of IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 and TNF- $\alpha$  were measured and their association with disease risk factors was established.

**Results:** High blood pressure (OR: 5.076; CI: 1.831-14.084), ages between 56 and 65 years (OR: 2.945; CI: 1.168-7.42), dyslipidemias (OR: 2.703; 1.175-6.211), high levels of TNF- $\alpha$  (OR: 2.625; CI: 1.135-6.072), IL-6 (OR: 21.048; CI: 7.470-59.306) and IL-12 (OR: 2.432; CI: 1.060-5.580) were associated with greater diabetes risk. However, in multivariate analysis, only IL-6 maintained a positive association with diabetes risk (OR=16.667; 95% CI: 2.39-112.35; P<0.05) and was an independent predictor of DM2.

**Conclusion:** The higher levels of the proinflammatory cytokines IL-6, IL-12 and TNF- $\alpha$  in patients with T2DM compared to the control group indicate that the inflammatory state in diabetic patients would be playing an important role in the pathogenesis of T2DM. Multivariate analysis showed a positive association between the plasmatic level of IL-6 and T2DM, therefore, the measurement of the levels of this cytokine could help in the prediction of the disease.

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica inflamatoria de bajo grado que, a largo plazo, puede estar acompañada de complicaciones micro y macrovasculares desencadenando altas tasas de morbi-mortalidad<sup>1,2</sup>. En este contexto, los mecanismos inflamatorios juegan un papel clave en la patogenia de la enfermedad, y consecuentemente en el desarrollo de otras patologías como la aterosclerosis, el deterioro de la función pulmonar y la enfermedad cardiovascular (ECV)<sup>3,4,5</sup>. Existen estudios que reportan alteración en los niveles circulantes de citoquinas pro y antiinflamatorias en personas diabéticas en diferentes regiones del mundo<sup>6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16</sup>. Los niveles elevados de las citocinas de fase aguda, IL-6 y FNT- $\alpha$  ejercen un efecto endocrino que confiere resistencia a la insulina en el hígado, el músculo esquelético y el tejido endotelial vascular, lo que conduce a la expresión clínica tanto de la DM2 como de la ECV<sup>6,7,8,9,10,11,12,13,14</sup>. Se ha estudiado también el papel de la IL-12 en el aumento del estrés oxidativo y de las citocinas IL-6 y FNT- $\alpha$  contribuyendo a la patogenia de las complicaciones macrovasculares<sup>10,11,12</sup>. Por otra parte, el desbalance en los niveles de las citocinas antiinflamatorias, IL-4 e IL-10 se ha visto que promueven la sensibilidad a la insulina, la tolerancia a la glucosa y la lipólisis, asociándose sus bajos niveles con síndrome metabólico y DM2<sup>6,13</sup>. En este sentido, se ha sugerido que la medida de los niveles de las citocinas pro y antiinflamatorias puede ser empleada para predecir el desarrollo de la DM2 y las diferentes complicaciones que se desencadenan<sup>17,18,19</sup>. El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles plasmáticos de las citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, y FNT- $\alpha$  como predictores de riesgo de DM2 en pacientes del Programa Cardiovascular en una institución de salud de la ciudad de Cali, Colombia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño y población de estudio

Se llevó a cabo un estudio transversal con 113 pacientes ambulatorios que asisten al programa cardiovascular de la institución de salud "Clínica Versailles". Los pacientes se dividieron en dos grupos, un grupo estuvo conformado por 33 pacientes diagnosticados con DM2 (con diagnóstico clínico y confirmado por laboratorio) que asistieron al programa durante los meses de Mayo y Noviembre de 2019. Los pacientes fueron seleccionados sobre la base de un control glucémico deficiente (HbA1C > 8,5%). Como grupo control se seleccionaron 80 sujetos que asisten al programa sin diagnóstico clínico de diabetes.

Se excluyó del estudio pacientes menores de 18 años, mujeres embarazadas, en uso de glucocorticoides o anti-

conceptivos orales, con enfermedad renal crónica, enfermedad hepática, neurológica, autoinmune, endocrinológica, antecedentes recientes de enfermedad cardiovascular (ataque cardíaco, accidente cerebrovascular, trombosis en los últimos cinco años) u otros trastornos metabólicos, infecciones recientes y cáncer.

La DM se definió según las pautas de la OMS, glucosa venosa plasmática en ayunas de  $\geq 7$  mmol/l (126 mg/dl) o glucosa venosa plasmática aleatoria de  $\geq 11,1$  mmol/l (200 mg/dl)<sup>15</sup>. La hipertensión (HTA) se consideró en pacientes con una presión arterial sistólica (PAS)  $\geq 140$  mmHg, presión arterial diastólica (PAD)  $\geq 90$  mmHg, o tratamiento con medicación antihipertensiva. La dislipidemia se definió como la presencia de colesterol total  $\geq 200$  mg/dl, un nivel de triglicéridos  $\geq 150$  mg/dl y un nivel de colesterol HDL  $< 40$  mg/dl (*Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol*), o el uso de una terapia con fármacos hipolipemiantes. El índice de masa corporal (IMC) se calculó usando la fórmula peso (kg)/altura (cm<sup>2</sup>). Se consideró que un paciente era obeso si tenía un índice de masa corporal (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup><sup>16</sup>.

### Medición de parámetros bioquímicos y biomarcadores plasmáticos.

Se recogieron 5 ml de sangre entera de cada participante y se centrifugó después de la coagulación para el análisis del perfil de lípidos. El plasma se almacenó en alícuotas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se realizó el análisis. La concentración de colesterol total (CT), triglicéridos (TG) utilizando el analizador A25 (*BioSystems, S.A. España*), y colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) se determinaron enzimáticamente. El nivel de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) se analizó utilizando un método indirecto.

La glucosa se midió utilizando el método de glucosa oxidasa mediante un analizador químico automatizado, *HumaStar 300SR (Human, Alemania)*. La insulina sérica se determinó utilizando el método de inmunoensayo de quimioluminiscencia (*Human GmbH, Alemania*).

La determinación cuantitativa de las concentraciones séricas de citocinas humanas (IL-4, IL-6, IL 10, y FNT- $\alpha$ ), se realizó mediante un inmunoensayo enzimático con kit *ELISA humano (Elabscience Biotechnology Inc. USA)* siguiendo las instrucciones del fabricante. El límite detectable para la IL-4 fue de 0,10 pg./ml, y los coeficientes de variación entre ensayos de 7,1% y 9,9%; para la IL-6 fue de 0,10 pg./ml, y los coeficientes de variación de 7,1% y 9,9%; para la IL-10 fue de 0,10 pg./ml, y los coeficientes de variación de 7,1% y 9,9%; y para el FNT- $\alpha$  fue de 1,01 pg/ml y los co-

eficientes de variación de 12,5% al 16,5%. En el caso de la IL-12 plasmática, se midió con un kit *ELISA comercial* (Enzo Life Sciences, Suiza) con un umbral de detección de 7,8 pg/mL y variación entre ensayos de 7% y el 8%. Los valores se midieron por duplicado y se informó el valor promedio para ambos ensayos. Los niveles plasmáticos de estas citocinas estuvieron por debajo del límite de detección en sujetos sanos.

### Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software *SPSS Vs 26.00 para Windows* (SPSS Inc., Chicago, Ill). Para las variables distribuidas normalmente, se utilizaron la media y la desviación estándar, mientras que los niveles de las variables no paramétricas se expresaron como mediana [intervalo de confianza (IC) del 95%] y se analizaron mediante la prueba de Mann-Whitney. Las variables categóricas se compararon entre grupos con la prueba de  $\chi^2$ , con un valor de  $p < 0,05$  que se consideró estadísticamente significativo.

Modelos de regresión logística fueron empleados para estimar el Odds Ratio (OR), expresado con sus intervalos de confianza del 95% (IC del 95%) para los dos grupos (con DM2 y sin DM2) en relación con los niveles de las citocinas pro y antiinflamatorias como variables dependientes. Las características basales de la población de estudio se informan de acuerdo con los altos niveles de citocinas evaluados. Las variables con nivel de significancia en la prueba univariante se evaluaron mediante un análisis de regresión logística multivariante. Se utilizaron curvas ROC (*receiver-operating characteristic*) para evaluar el poder discriminatorio de cada citocina evaluada.

### Consideraciones éticas.

El estudio recibió el aval ético del Comité de Ética en Investigación de la clínica Versalles de la ciudad de Cali (acta # 2016-17-05). Antes del comienzo del estudio, todos los voluntarios fueron informados de los procedimientos y la recopilación de datos. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. Todos los participantes recibieron un código que se utilizó para garantizar la confidencialidad durante todo el estudio. Los investigadores estaban certificados en Buenas Prácticas Clínicas y códigos éticos de conducta.

## RESULTADOS

### Características clínicas.

La población objeto de estudio presentó una edad promedio de 67 (DE  $\pm$  13,496) años y un IMC de 26,76 (DE  $\pm$  5,166) kg/m<sup>2</sup>; el 48% de la población evaluada fueron hombres. La edad promedio de los pacientes diabéticos fue 64 ( $\pm$  14,307) años y el 63,6% fueron mujeres. Las medianas de PAS y PAD fueron 129 ( $\pm$ 20,612 mmHg) y 80 ( $\pm$ 22,505 mmHg), respectivamente. Los niveles medios de CT, LDL-c, HDL-c y TG fueron 204  $\pm$  23,358 mg/dl, 98  $\pm$  24,650 mg/dl, 43  $\pm$  14,032 mg/dl y 183  $\pm$  80,594 respectivamente. Los niveles medianos de IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 y FNT- $\alpha$  fueron

1,50 pg/ml [1,00-50,0], 1,50 pg/ml [1,00-50,0], 1,50 pg/ml [1,00-50,0], 33,50 pg/ml [2,00-70,00], y 7,00 pg/ml [1,00-92,50], respectivamente.

Los pacientes diabéticos presentaron diferencias significativas en los niveles promedios de HDL-c (44,69 mg/dL,  $p = 0,001$ ) respecto al grupo sin DM2 (44,32 mg/dL). Se observó también diferencias significativas entre los dos grupos en relación con el rango de edad de 56 y 65 años (36,4% vs 16,3%,  $p=0,19$ ), hipertensos (63,6% vs 88,8%,  $p=0,001$ ) y con dislipidemia (39,4% vs 63,8%,  $p = 0,018$ ).

Los niveles de las citocinas entre los dos grupos del estudio fueron significativamente diferentes, como se muestra en la **Tabla 1**, los pacientes diabéticos presentaron una mayor mediana en los niveles plasmáticos de todas las citocinas evaluadas ( $p < 0,05$ ).

Para el análisis, se consideraron altos los niveles de IL-4, IL-6 y IL-10, IL-12 y FNT- $\alpha$ , por encima de 8,2 pg/ml, 11,2 pg/ml, 33,5 pg/ml y 9,10 pg/ml, respectivamente. El mayor porcentaje de niveles plasmáticos altos de citocinas proinflamatorias se observó en el grupo de pacientes diabéticos ( $p < 0,05$ ). El 78,8%, 63,6% y 60% de los pacientes diabéticos presentaron niveles altos de IL-6, FNT- $\alpha$ , e IL-12, respectivamente. Sin embargo, no se encontró diferencias significativas en los niveles plasmáticos de los marcadores antiinflamatorios (IL-4 e IL-10) entre los dos grupos.

En la **tabla 2** se presenta la relación entre los niveles de citocinas con los factores de riesgo asociados a la DM2 en el grupo de pacientes diabéticos. Entre los biomarcadores inflamatorios, se observó que el 33,3% y el 21,2% de los pacientes obesos presentaron asociación positiva con altos niveles plasmáticos de FNT- $\alpha$  e IL-6, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Mientras que el 12,2% de los pacientes que tenían dislipidemias registraron valores significativamente altos de la IL-12 ( $p=0,44$ ). El 9,1% de los pacientes mayores de 76 años presentaron niveles significativamente bajos de IL-10 ( $p = 0,031$ ).

### Asociaciones de citocinas individuales con diabetes

En el análisis univariado se observó una asociación estadísticamente significativa en pacientes diabéticos en edades entre los 56 y 65 años, con HTA, dislipidemia y con niveles plasmáticos elevados de IL-6, IL-12 y TNF- $\alpha$ , con un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . Después del ajuste para otros factores de riesgo de DM2 establecidos, el modelo de regresión logística multivariado confirmó que sólo los niveles plasmáticos de IL-6 (OR=16,667; IC del 95%: 2,39-112,35;  $P < 0,05$ ) puede ser considerado predictor independiente de DM2 (**Tabla 3**). En el caso de la IL-12 y el TNF- $\alpha$ , a pesar de que se asociaron significativamente con DM2, este efecto se atenuó por completo y dejó de ser significativo después del ajuste por factores de riesgo de DM2 establecidos en el análisis multivariado.

Al comparar el rendimiento de la puntuación de riesgo de las citocinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, FNT- $\alpha$ ) con la DM2, el área bajo la curva ROC (AUC) indicó una mayor precisión con IL-6. El AUC promedio para IL-6 fue 0,930 (IC del 95%: 0,885-0,974) como se observa en la **figura 1**.

TABLA 1.

Características basales de los pacientes con o sin Diabetes Mellitus tipo 2.

| Variables                                | Total (n=113)     | Diabetes (n=33)    | No-Diabetes (n=80)   | Valor P  |
|--|-------------------|--------------------|----------------------|----------|
| Sexo Masculino n (%)                     | 48 (42,5)         | 12 (36,4)          | 36 (45)              | 0,398    |
| Edad (promedio ± DS)                     | 67 ± 13,496       | 64 ± 14,307        | 67,93 ± 13,061       | 0,339    |
| <45 años                                 | 6 (5,3)           | 2 (6,1)            | 4 (4,9)              | 0,987    |
| 46-55 años                               | 21(18,6)          | 5 (15,2)           | 16 (20)              | 0,547    |
| 56-65 años                               | 25 (22,1)         | 12 (36,4)          | 13 (16,3)            | 0,019*   |
| 66-74 años                               | 29 (25,7)         | 7 (21,2)           | 22 (27,5)            | 0,487    |
| >75 años                                 | 30 (26,5)         | 7 (21,2)           | 23 (28,8)            | 0,409    |
| <b>Medidas antropométricas</b>           |                   |                    |                      |          |
| IMC, kg/m2                               | 26 (±5,166)       | 26,50 ± 4,893      | 26,88 ± 5,300        | 0,056    |
| <b>Marcadores bioquímicos</b>            |                   |                    |                      |          |
| Colesterol total, mg/dL                  | 204 (±23,358)     | 197,55 ± 22,475    | 208,09 ± 23,153      | 0,274    |
| HDLc, mg/dL                              | 43 (±14,032)      | 44,69 ± 20,337     | 44,32 ± 10,563       | 0,001*   |
| LDL-c, mg/dL                             | 98 (±24,650)      | 107,12 ± 29,063    | 98,90 ± 22,345       | 0,472    |
| Triglicéridos, mg/dL                     | 183 (±80,594)     | 185,36 ± 122,556   | 174,26 ± 55,572      | 0,328    |
| Presión arterial sistólica, mmHg         | 129 (±20,612)     | 132,09 ± 17,271    | 130,54 ± 18,554      | 0,550    |
| Presión arterial diastólica, mmHg        | 80 (±22,505)      | 72,64 ± 18,601     | 69,99 ± 23,997       | 0,123    |
| <b>Factores asociados a Diabetes (%)</b> |                   |                    |                      |          |
| Obesidad n (%)                           | 41 (36,3)         | 12 (36,4)          | 29 (36,4)            | 0,991    |
| HTA n (%)                                | 92 (81,4)         | 21 (63,6)          | 71 (88,8)            | 0,001*   |
| Dislipidemia                             | 64 (56,6)         | 13 (39,4)          | 51 (63,8)            | 0,018*   |
| <b>Citocinas</b>                         |                   |                    |                      |          |
| IL-4 (pg/mL), mediana [25th-75th]        | 1,50 [1,00-50,0]  | 7,00 [2,00-35,75]  | 2,951 [1,00-7,00]    | P<0,001* |
| IL-4 baja n (%)                          | 85 (75,2)         | 12 (36,4)          | 8 (10)               | 0,421    |
| IL-6 (pg/mL), mediana [25th-75th]        | 1,50 [1,00-50,0]  | 24,047 [100-132]   | 1,25 [1,00-3,13]     | P<0,001* |
| IL-6 alta n (%)                          | 38 (33,6)         | 26 (78,8)          | 12 (15)              | P<0,001* |
| IL-10 (pg/mL), mediana [25th-75th]       | 1,50 [1,00-50,0]  | 4,00 [1,00-7,80]   | 1,00 [1,00-2,34]     | 0,011*   |
| IL-10 baja n (%)                         | 108 (95,6)        | 22 (66,7)          | 20 (25)              | 0,747    |
| IL-12 (pg/mL), mediana [25th-75th]       | 33,50 [2,00-7,0]  | 28,935 [17,25-260] | 1.257 [0,98-1,613]   | 0,034*   |
| IL-12 alta n (%)                         | 51 (45,1)         | 20 (60,0)          | 31 (38,8)            | 0,034*   |
| FNT-α (pg/mL), mediana [25th-75th]       | 7,00 [1,00-92,50] | 21,604 [80 - 117]  | 1,50 [0,342 - 0.613] | 0,022*   |
| FNT-α alta n (%)                         | 53 (46,9)         | 21 (63,6)          | 32 (40)              | 0,022*   |

IMC: índice de masa corporal, HTA: hipertensión, ECV: Enfermedad Cardiovascular, ERC: Enfermedad renal crónica, EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. \* diferencia significativa: p≤0,05

TABLA 2.

Marcadores pro y antiinflamatorios según factores de riesgo en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 (n = 33).

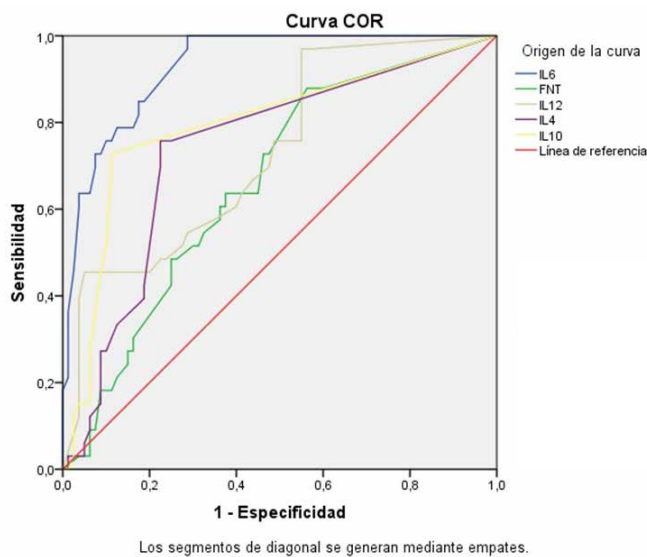
| Características             | IL-4 baja | P-value | IL-6 alta | Valor P | IL-10 baja | Valor P | IL-12 alta | Valor P | FNT-α alta | Valor P |
|-----------------------------|-----------|---------|-----------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| Sexo Masculino              | 9 (27,3)  | 0,748   | 10 (30,3) | 0,629   | 6 (18,2)   | 0,826   | 6 (18,2)   | 0,346   | 8 (24,2)   | 0,784   |
| <b>Rango de edad (años)</b> |           |         |           |         |            |         |            |         |            |         |
| 45-55                       | 1 (3,1)   | 0,315   | 4 (12,1)  | 0,718   | 3 (9,1)    | 0,586   | 3 (9,1)    | 0,669   | 2 (6,1)    | 0,242   |
| 56-65                       | 3 (9,1)   | 0,748   | 10 (30,3) | 0,494   | 7 (21,2)   | 0,536   | 7 (21,2)   | 0,564   | 9 (27,3)   | 0,261   |
| 66-75                       | 4 (12,1)  | 0,568   | 6 (18,2)  | 0,531   | 7 (21,2)   | 0,250   | 5 (15,2)   | 0,509   | 4 (12,1)   | 0,687   |
| >76                         | 3 (9,1)   | 0,548   | 4 (12,1)  | 0,115   | 3 (9,1)    | 0,031*  | 4 (12,1)   | 0,833   | 5 (15,2)   | 0,629   |
| Obesidad                    | 6 (18,2)  | 0,327   | 7 (21,2)  | 0,043*  | 9 (27,3)   | 0,802   | 18 (54,5)  | 0,590   | 11 (33,3)  | 0,011*  |
| Dislipidemia                | 4 (12,1)  | 0,790   | 19 (57,6) | 0,489   | 8 (24,2)   | 0,918   | 4 (12,1)   | 0,044*  | 16 (48,5)  | 0,939   |
| HTA                         | 8 (24,2)  | 0,891   | 18 (54,5) | 0,198   | 14 (42,4)  | 0,205   | 13 (39,4)  | 0,840   | 12 (36,4)  | 0,305   |

HTA: hipertensión, ECV: Enfermedad Cardiovascular, ERC: Enfermedad renal crónica, EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. \* diferencia significativa: p≤0,05

TABLA 3.

Análisis univariado y multivariado de factores de riesgo de Diabetes Mellitus tipo 2 (n = 113).

| Características    | Univariado OR (95% IC) | Valor P  | Multivariado OR (95% IC) | Valor P |
|--------------------|------------------------|----------|--------------------------|---------|
| 56-65              | 2,945 (1,168-7,428)    | 0,019*   | 110,31 (0,277-43941,11)  | 0,124   |
| HTA                | 5,076 (1,831-14,084)   | 0,001*   | 0,038 (0,001-1,793)      | 0,097   |
| Dislipidemia       | 2,703 (1,175-6,211)    | 0,018*   | 0,210 (0,005-8,019)      | 0,401   |
| IL-4 alta          | 0,619 (0,192-1,996)    | 0,421    | 0,462 (0,016-13,301)     | 0,653   |
| IL-6 alta          | 21,048 (7,470-59,306)  | P<0,001* | 16,667 (2,39-112,35)     | 0,018*  |
| IL-10 alta         | 1,364 (0,206-9,016)    | 0,747    | 0,182 (0,002-13,671)     | 0,440   |
| IL-12 alta         | 2,432 (1,060-5,580)    | 0,034*   | 0,903 (0,034-23,799)     | 0,951   |
| FNT- $\alpha$ alta | 2,625 (1,135-6,072)    | 0,022*   | 0,124 (0,008-1,860)      | 0,131   |

\* diferencia significativa:  $p \leq 0,05$ 

| Biomarcador   | Área bajo la curva | 95% de intervalo de confianza asintótico |                 |
|---------------|--------------------|--|-----------------|
|               |                    | Límite inferior                          | Límite superior |
| IL-4          | 0,738              | 0,636                                    | 0,840           |
| IL-6          | 0,930              | 0,885                                    | 0,974           |
| IL-10         | 0,795              | 0,695                                    | 0,894           |
| IL-12         | 0,732              | 0,633                                    | 0,832           |
| FNT- $\alpha$ | 0,663              | 0,558                                    | 0,768           |

FIGURA 1

Curva ROC para IL-6

### Discusión

En este estudio transversal el promedio de edad de los pacientes con DM2 fue 64 años y los pacientes en edades entre 56 y 65 años presentaron un mayor riesgo de desarrollar DM2 (OR: 2,945; IC: 1,168-7,428;  $p=0,019$ ), mostrando concordancia con los reportes epidemiológicos<sup>20,21,22,23,24,25,26,27,28</sup>. Los pacientes más afectados fueron las mujeres en un 63,6% de los casos, estos resultados fueron similares a algunos estudios previos realizados en México, Colombia y Argentina<sup>15,29,30</sup>.

La HTA y la dislipidemia fueron factores de riesgo importantes para el desarrollo de la DM2 (OR: 5,076; IC:

1,831-14,084;  $p=0,001$  y OR: 2,703; IC: 1,175-6,211;  $p=0,018$ , respectivamente), este resultado no es sorprendente, porque la HTA y las alteraciones lipídicas son comorbilidades extremadamente frecuente en los diabéticos, y contribuyen en el desarrollo y la progresión de las complicaciones crónicas de la diabetes<sup>31</sup>. A menudo hacen parte del síndrome que ha sido denominado síndrome X o síndrome metabólico, el cual incluye también intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, obesidad y enfermedad arterial coronaria<sup>32</sup>.

El análisis en los niveles de las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias se vienen estudiando como potenciales marcadores de diabetes en diferentes poblaciones del mundo. Se ha señalado que la inflamación de bajo grado y el aumento en los niveles basales de los mediadores inflamatorios desempeñan un papel importante en la patogenia de la DM2<sup>3,4</sup>. Los hallazgos del presente estudio confirman que los niveles plasmáticos elevados de IL-6, FNT- $\alpha$ , e IL-12 se asociaron positivamente con DM2. Bashir y cols, encontraron en pacientes diabéticos indios una correlación positiva de TNF- $\alpha$  e IL-6 con DM2 y sensibilidad a la insulina, indicando que pueden actuar como biomarcadores de predicción temprana de DM2<sup>8</sup>. Resultados similares fueron reportados en poblaciones de Ghana y en americanos de origen mexicano<sup>9,10</sup>. A partir del meta-análisis realizado por Liu y cols, con reportes de diferentes poblaciones se dedujo que el riesgo de DM2 en su conjunto estuvo fuertemente asociado con niveles elevados de citoquinas inflamatorias, aunque encontraron considerable heterogeneidad entre los estudios<sup>14</sup>. Parece claro que existe una interacción compleja entre la inflamación y el desarrollo de la DM2. Además, el estado inflamatorio podría ser el reflejo de la actividad de un proceso aterosclerótico subyacente y el consecuente riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular aterosclerótica<sup>4</sup>. De hecho, la correlación positiva entre marcadores inflamatorios y el riesgo cardiovascular ha sido significativa en algunos estudios<sup>18,19,23</sup>. Sin embargo, la comorbilidad de la hipertensión con DM2 no tuvo efecto sobre los niveles de IL-6 y TNF- $\alpha$ .

El 12,2% de los pacientes diabéticos que presentaron dislipidemias registraron valores significativamente altos de la IL-12 ( $p=0,44$ ). Un estudio adelantado con pacientes

diabéticos indonesios determinó que, incluso en el primer diagnóstico de DM2, los sujetos con lípidos anormales tenían elevados los niveles de la IL-12, y con el incremento de los niveles de la proteína C reactiva (PCR) se aumenta aún más los niveles plasmáticos de la IL-12, con una consecuente progresión de la enfermedad cardiovascular<sup>12,20</sup>. Wegeberg y cols encontraron una fuerte asociación entre la función neurocardíaca y el niveles de la IL-12/IL-23p40 con cambios sistémicos en la función proinflamatoria, endotelial y linfática, lo que afectaría la función cardiovascular general<sup>19</sup>.

Entre pacientes diabéticos, los altos niveles plasmáticos de FNT- $\alpha$  e IL-6 se asociaron positivamente con la obesidad. Darko y cols encontraron resultados similares en habitantes urbanos de la región de Ghana, concluyendo que la obesidad prevalente entre los pacientes diabéticos explicaría los altos niveles de citocinas proinflamatorias encontrados en ellos.

Se ha visto que, en la obesidad, la hipertrofia del tejido adiposo ocasiona una disminución en la concentración de receptores de insulina en los adipocitos, por tanto, se hacen menos sensibles a la insulina con el consecuente aumento en la actividad de lipasa adipolítica, esto ocasiona la producción constante de ácidos grasos libres y su liberación a la circulación<sup>25</sup>. En estas condiciones, los adipocitos tienen un patrón especial de secreción endocrina con mayor producción de las citoquinas inflamatorias, como el FNT- $\alpha$  y la IL-6, lo que conduce a una respuesta de fase aguda con aumento de la producción hepática de PCR, promoviendo aún más la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa y estimulando la producción endotelial de moléculas de adhesión, que son mediadores críticos de la disfunción endotelial durante la inflamación que se observa en la diabetes<sup>3,4,26,27,28</sup>.

Sin embargo, una vez se hizo el ajuste para los factores de riesgo establecidos para la DM2, sólo los niveles plasmáticos de la IL-6 mantuvieron asociación positiva con la diabetes, y el análisis realizado a partir de las curvas ROC muestra que los niveles plasmáticos de la IL-6 resultan ser un buen predictor de DM2. Se plantea que la inflamación crónica de bajo grado en la obesidad, reflejada por un aumento en el nivel sistémico de la IL-6, parece preceder y es un factor de riesgo del desarrollo posterior de resistencia a la insulina y DM2<sup>27</sup>. La IL-6 se ha identificado como un predictor independiente de DM2 y eventos cardiovasculares asociados en algunos estudios<sup>10,11,17</sup>, pero no en otros<sup>18</sup>, y la información disponible sobre el efecto de una mejora del control glucémico sobre los marcadores inflamatorios es muy escasa<sup>10,11,17,18,19,20</sup>.

Aunque se ha visto a las citoquinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10 con un papel preponderante en el síndrome metabólico y la DM2, en este estudio no se encontró asociación alguna con la DM2 o alguna de sus comorbilidades<sup>6,12</sup>.

Se requieren futuros estudios prospectivos multicéntricos que incluyan un mayor número de citoquinas pro y antiinflamatorias en asociación con otros parámetros para establecer su importancia como biomarcadores tempranos y predictores de diagnóstico para DM2.

Este estudio ha tenido varias limitaciones importantes. La muestra se tomó a partir de un solo centro por lo que el tamaño de población fue relativamente pequeño. Aunque se excluyó del estudio pacientes que sufrieron infecciones en los últimos tres meses, o con padecimiento crónicos, los niveles circulantes de las citocinas evaluadas pudieron estar influenciados por otros factores como condiciones inflamatorias crónicas subclínicas, que pueda presentar los pacientes. Además, no se incluyó el perfil terapéutico de ambas poblaciones respecto del uso de drogas con efecto antiinflamatorio (estatinas, IECA, AAS, entre otros fármacos de uso frecuente en este perfil de pacientes). Otra limitación fue el diseño transversal del estudio, por lo que no se pudo separar los factores causales o de riesgo de un aumento coincidente en los niveles plasmáticos de las citocinas en los diferentes grupos de población del estudio.

## CONCLUSIONES

Los niveles más altos de las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-12 y el FNT- $\alpha$  en pacientes con DM2 en comparación con el grupo de control indican que el estado inflamatorio en pacientes diabéticos estaría jugando un papel importante en la patogenia de la DM2.

Los niveles plasmáticos elevados de IL-6 se asociaron positivamente con la DM2 en la población estudiada y podría ser un fuerte predictor de la enfermedad. Sin embargo, la compleja interacción de la inflamación observada en la DM2 hace necesario tener en cuenta otros factores como la obesidad, que también influye en el aumento de las citocinas proinflamatorias observada en los pacientes diabéticos.

## Reconocimientos

Los autores agradecen al Centro de Investigaciones de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Libre Seccional Cali por el apoyo económico para la realización de este estudio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. *Diabetologia* **2010**; 53: 10 – 20.
2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract* **2014**; 103: 137 - 149.
3. Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* **2012**; 38: 183 – 191.
4. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E. The role of inflammation in diabetes: current concepts and future perspectives. *Eur Cardiol Rev* **2019**; 14: 50 – 59.
5. World Health Organization (WHO). Complications of Diabetes **2020**. Disponible en: [https://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/en/index3.html](https://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/index3.html) Acceso 19 de Agosto de 2023.
6. Exel E, Gussekloo J, de Craen AJ, et al for the Leiden 85 Plus Study. Low production capacity of interleukin-10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: the Leiden 85-Plus Study. *Diabetes* **2002**; 51: 1088 – 1092.
7. Saeed Majeed HM, Abdul-Hassan Abbas A, Khudair MS. The role of TNF $\alpha$  in type2 diabetes mellitus. *Revis Bionatura* **2022**; 7: 32.

8. Bashir H, Ahmad Bhat S, Majid S, et al. Role of inflammatory mediators (TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP), biochemical and hematological parameters in type 2 diabetes mellitus patients of Kashmir, India. *Med J Islam Repub Iran* **2020**; 34: 5.
9. Darko SN, Yar DD, Owusu-Dabo E, et al. Variations in levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in type 2 diabetes mellitus between rural and urban Ashanti Region of Ghana. *BMC Endocr Disord* **2015**; 15: 50.
10. Mirza S, Hossain M, Mathews C, et al. Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: a cross-sectional study. *Cytokine* **2012**; 57: 136 - 142.
11. Rehman K, Akash MSH, Liaqat A, et al. Role of Interleukin-6 in Development of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* **2017**; 27: 229 - 236.
12. Ali M, Mali V, Haddox S, et al. Essential Role of IL-12 in Angiogenesis in Type 2 Diabetes. *Am J Pathol* **2017**; 187: 2590 - 2601.
13. Rapoport MJ, Jaramillo A, Zipris D, et al. Interleukin 4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* **1993**; 178: 87 - 99.
14. Liu C, Feng X, Li Q, et al. Adiponectin, TNF- $\alpha$  and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine* **2016**; 86: 100 - 109.
15. World Health Organization (WHO). Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF Consultation; **2006**. Disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43588>. Acceso 19 de Agosto de 2023.
16. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care* **2018**; 42 (Supplement 1): S1 - S194.
17. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, et al. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* **2011**; 9: 48.
18. Qu D, Liu J, Lau CW, et al. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br J Pharmacol* **2014**; 171: 3595 - 3603.
19. Wegeberg AM, Okdahl T, Riahi S, et al. Elevated levels of interleukin-12/23p40 may serve as a potential indicator of dysfunctional heart rate variability in type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* **2022**; 21: 5.
20. Sari MP, Maani H, Nasrul E, et al. Correlation of lipid profile with interleukin-12 in type 2 diabetes mellitus. *Indones J Clinical Pathol Med Laboratory* **2018**; 25: 3 - 34.
21. Kersten S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Rep* **2001**; 2: 282 - 286
22. Kern PA, Ranganathan S, Li C, et al. Adipose tissue, tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **2001**; 280: 745 - 751.
23. Chávez M, Sánchez CA, Tascón AJ. Niveles plasmáticos de IL-6, IL-12 y TNF- $\alpha$  en pacientes con y sin enfermedad cardiovascular aterosclerótica. *Rev Fed Arg Cardiol* **2021**; 50: 122 - 127.
24. Sindhu S, Thomas R, Shihab P, et al. Obesity is a positive modulator of IL-6R and IL-6 expression in the subcutaneous adipose tissue: significance for metabolic inflammation. *PLoS One* **2015**; 10: e0133494.
25. Wu W, Wang M, Sun Z, et al. The predictive value of TNF- $\alpha$  and IL-6 and the incidence of macrovascular complications in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol* **2012**; 49: 3 - 7.
26. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA* **2001**; 286: 327 - 334.
27. Dallmeier D, Larson MG, Wang N, et al. Addition of inflammatory biomarkers did not improve diabetes prediction in the community: the Framingham heart study. *J Am Heart Assoc* **2012**; 1: e000869.
28. Pradhan AD, Everett BM, Cook NR, et al. Effects of initiating insulin and metformin on glycemic control and inflammatory biomarkers among patients with type 2 diabetes: the LANCET randomized trial. *JAMA* **2009**; 302: 1186 - 1194.
29. Payares NV, Chávez Vivas M, Tascón A.J. Caracterización epidemiológica de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 que consultaron en un hospital de la ciudad de Cali, Colombia. *Rev Med Rosario* **2022**; 88: 119 - 128.
30. Gonzalez L, Caporale JE, Elgart JF, et al. The burden of diabetes in Argentina. *Glob J Health Sci* **2014**; 7: 124 - 133.
31. Sunkara N, Ahsan C. Hypertension in diabetes and the risk of cardiovascular disease. *Cardiovasc Endocrinol* **2017**; 6: 33 - 38.
32. Vinagre I, Sánchez-Quesada JL, Sánchez-Hernández J, et al. Inflammatory biomarkers in type 2 diabetic patients: effect of glycemic control and impact of LDL subfraction phenotype. *Cardiovasc Diabetol* **2014**; 13: 34.