



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

VARIABILIDAD DE LINFOCITOS TH1 ANTES Y DESPUÉS
DEL ESQUEMA EMPÍRICO PARA TUBERCULOSIS
PULMONAR MULTIDROGORRESISTENTE
COMPLEJO HOSPITALARIO PNP LUIS NICASIO SÁENZ 2021

PRESENTADA POR
JANETH SUSY CUYUBAMBA GARCIA

ASESOR
MTRA. ROSA ANGÉLICA GARCÍA LARA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
NEUMOLOGÍA

LIMA – PERÚ
2020



**Reconocimiento - No comercial - Compartir igual
CC BY-NC-SA**

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, siempre y cuando se reconozca la autoría y las nuevas creaciones estén bajo una licencia con los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
UNIDAD DE POSGRADO**

**VARIABILIDAD DE LINFOCITOS TH1 ANTES Y DESPUÉS
DEL ESQUEMA EMPÍRICO PARA TUBERCULOSIS
PULMONAR MULTIDROGORRESISTENTE
COMPLEJO HOSPITALARIO PNP LUIS NICASIO SÁENZ 2021**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**PARA OPTAR
EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN NEUMOLOGÍA**

**PRESENTADO POR
JANETH SUSY CUYUBAMBA GARCIA**

**ASESOR
MTRA. ROSA ANGÉLICA GARCÍA LARA**

LIMA, PERÚ

2020

ÍNDICE

	Págs.
Portada	i
Índice	ii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Descripción del problema	4
1.2 Formulación del problema	6
1.3 Objetivos	6
1.4 Justificación	7
1.5 Viabilidad y factibilidad	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1 Antecedentes	9
2.2 Bases teóricas	11
2.3 Definición de términos básicos	16
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	18
3.1 Formulación de la hipótesis	18
3.2 Variables y su operacionalización	
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	19
4.1 Tipos y diseño	19
4.2 Diseño muestral	19
4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos	20
4.4 Procesamiento y análisis de datos	21
4.5 Aspectos éticos	21
CRONOGRAMA	22
PRESUPUESTO	23
FUENTES DE INFORMACIÓN	24
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia	
2. Instrumento de recolección de datos	
3. Consentimiento informado	

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

La tuberculosis (TB) continúa aún como un importante problema de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Para el año 2014, se estimó que alrededor de 9.6 millones de personas enfermaron de TB y 1.5 millones fallecieron a consecuencia de esta enfermedad. Además, un número de aproximadamente 480 mil personas desarrollaron tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) y 190 mil fallecieron como consecuencia de ello (1).

En su mayoría, el número de casos nuevos de TB ocurrió en los países de las regiones de Asia Sudoriental - Pacífico Occidental (58%) y África (28%) (1).

En Las Américas y el Caribe, en 2012, se estimó una incidencia de TB de 29 casos por 100 mil habitantes, de los cuales dos tercios de los casos nuevos tuvieron lugar en los países del área andina de América del Sur. Además, el 60% de los casos nuevos se concentraron en Haití, Bolivia, Guyana y Perú, países que reportan las más altas tasas de incidencia en toda la región de las Américas y el Caribe (1).

En el Perú, como consecuencia del fortalecimiento del programa de control de la tuberculosis, desde los noventa hasta el año 2003, se observó una disminución sostenida en la incidencia de TB mayor al 8% anual. Luego, la tendencia se mantuvo casi estacionaria, y llegó a una disminución promedio anual de 2%. En 2014, se reportaron, en el Perú, alrededor de 27 350 nuevos casos de TB y la incidencia de TB reportada fue de 88.8 casos nuevos por cada 100 mil habitantes (1).

Durante los años 2013 y 2014, cinco departamentos (Madre de Dios, Ucayali, Loreto, Lima, e Ica) presentaron la mayor incidencia de TB. Estos departamentos reportaron el 72% de los casos nuevos notificados en el país. Lima es el departamento que más casos de tuberculosis concentra en el país (60%) y es el tercer departamento con la incidencia más alta; el mayor porcentaje de casos se

concentran en la provincia Metropolitana de Lima y en sus distritos de San Juan de Lurigancho, Rímac, La Victoria, El Agustino, Ate, Santa Anita y Barranco (1).

Desde el año 1997 hasta 2014, se han detectado en el Perú, más de 15 mil casos de TB MDR. El mayor número de casos de TB MDR se han reportado en los últimos 10 años (de 2005 en adelante), en los que el promedio reportado por año superó los 1100 casos de TB MDR, con una tendencia creciente en los últimos cuatro años. El mayor porcentaje de los casos de TB MDR han sido reportados en departamentos de la costa, Lima con el 83.1% y un 12% en otros departamentos de la costa (1).

Según el área de Estadística del Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz, para el año 2016, existieron, en el Programa de Control de Tuberculosis (PCT), 196 casos de pacientes (entre oficiales, cadetes, suboficiales, alumnos y familiares) con tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, de los cuales 120 era TB sensible y 16 correspondieron a TB MDR. Para el año 2017, la cifra se mantuvo en 150 casos de tuberculosis; fueron 105 casos con TB sensible, 17 con TB MDR y 2 pre XDR.

La TB pulmonar es la forma clínica más frecuente de la enfermedad (2). La infección comienza con la entrada del bacilo de la TB en el cuerpo, el cual ingresa a través del tracto respiratorio al inhalar microgotas de saliva eliminadas de un enfermo con TB pulmonar en la tos, estornudos o al hablar y cantar; estas microgotas contienen micobacterias, las cuales tienen un tamaño entre 1–2 μ m o menos. El desarrollo de la enfermedad depende de la proliferación de bacilos virulentos y de la propia respuesta inmunológica del huésped (2,3).

La respuesta inmune, especialmente la celular, juega un papel importante en la infección por *M. tuberculosis*. Los mecanismos celulares efectores que coadyuvan al control de la infección están dados principalmente por el macrófago y las células T (CD4 y CD8). Los linfocitos TCD4 son los esenciales en la defensa y control de la tuberculosis, especialmente la subclase TH1, ya que estas células son las productoras de citocinas tales como IFN-g. Esta citocina activa la actividad antimicrobiana en el macrófago; mientras que la subclase TH2 produce citocinas

como la interleucina-4 (IL-4) e interleucina-10 (IL-10), que se han asociado con el control del proceso inflamatorio (2).

A pesar del conocimiento de los diferentes mecanismos de la respuesta inmune que intervienen ante la infección contra el *M. tuberculosis*, no ha sido posible la identificación de marcadores inmunológicos que permitan explicar la susceptibilidad de algunos individuos a desarrollar la enfermedad y, en ocasiones, la resistencia a los fármacos antituberculosos.

Se ha observado en algunos estudios que una infección con TB MDR resultó en una supresión de las células TH1 y TH2, que fue más notable en pacientes con TB MDR que en pacientes con TB sensible.

Sin embargo, el papel de las células T aún no está del todo claro, por lo que es necesario contar con un conocimiento más profundo sobre la patogénesis de esta enfermedad que permita el desarrollo de nuevas estrategias enfocadas en la prevención y control, así como la caracterización de factores de virulencia particulares de la micobacteria y los mecanismos de resistencia para desarrollar nuevos blancos terapéuticos, ya sea farmacológicos o genéticos.

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es la variabilidad de los valores de los linfocitos TH1, antes y después del esquema empírico multidrogorresistente, en pacientes con tuberculosis pulmonar, tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante 2021?

1.3 Objetivos

Objetivo general

Determinar la variabilidad de los valores de los linfocitos TH1, antes y después del esquema empírico multidrogorresistente, en pacientes con tuberculosis pulmonar, tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz, durante 2021.

Objetivos específicos

Cuantificar la expresión de linfocitos TH1 que existe antes del tratamiento empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar, mediante la producción de sus citocinas inflamatorias: IL-2, IFN- γ , TNF- α .

Cuantificar la expresión de linfocitos TH1 que existe al término del tratamiento empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar, mediante la producción de sus citocinas inflamatorias: IL-2, IFN- γ , TNF- α .

Comparar la producción de citocinas por los linfocitos TH1 y la respuesta al tratamiento en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente.

Comparar la producción de citocinas por los linfocitos TH1 en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente, según edad y sexo.

1.4 Justificación

Se ha observado, de manera alarmante, que existe un ascenso gradual en las formas resistentes de tuberculosis pulmonar reportada, en su mayoría, en la capital.

Actualmente, no se ha logrado descifrar el mecanismo exacto por el cual algunos individuos son más susceptibles a crear resistencia, y los tratamientos antituberculosos actuales van enfocados principalmente en eliminar la bacteria. Por ello, es necesario conocer acerca de los procesos enzimáticos y bioquímicos requeridos para la supervivencia del bacilo y de los factores genéticos e inmunológicos del huésped, ambos elementos claves en la resistencia de la bacteria.

La presente investigación pretende determinar el papel del estado inmunológico del huésped mediante la expresión de las células T subclase TH1 en el mecanismo de resistencia y, de esta manera, conocer si existe una relación de causa - efecto para redireccionar los tratamientos actuales, que muchas veces ocasionan efectos adversos indeseados, y diseñar nuevos fármacos basados en reforzar el sistema inmunológico para prevenir que pacientes con tuberculosis sensible vayan a las

formas resistentes o que pacientes multidrogoresistentes tengan mala respuesta al tratamiento y vayan a formas más severas de resistencia.

1.5 Viabilidad y factibilidad

El presente estudio es viable, pues se tiene el permiso de la institución para la ejecución del presente proyecto. Además, se contará con la asesoría de un especialista en el tema.

El estudio también es factible, ya que se cuenta con los recursos humanos y económicos para los gastos de materiales como el Kit de Cytometric Bead Array (CBA) y el alquiler del citómetro de flujo BD FACS Canto II que permitirán la adquisición y el análisis de las células a medir en nuestra investigación.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En 2020, Xu H et al. realizaron una investigación en la provincia de Shaanxi desde octubre de 2009 hasta marzo 2015, en la que se evaluó la importancia de la relación TH2/TH1 en la predicción de formas de tuberculosis resistentes; para ello, se estudiaron 373 pacientes, mayores de 18 años, del Hospital de Prevención y Control de Tuberculosis. Todos ellos con pleuritis tuberculosa.

La relación de células TH2/TH1 se calculó directamente en función de la frecuencia de las células CD4 TH2 y TH1 mediante citometría de flujo. Se observó que en los 145 pacientes con TB-MDR con fracaso al tratamiento, la relación TH2/TH1 era mayor, en comparación con aquellos con buena evolución clínica.

Se concluyó que los pacientes con una relación TH2/TH1 más alta, basada en el valor de corte óptimo de 0.54, tenían una tendencia ligeramente mayor hacia una mayor incidencia de fracaso del tratamiento y ocurrencia de TB-MDR (4).

En 2019, Li G et al. ejecutaron un estudio con el objetivo de evaluar el papel de las células T CD4 + / CD8 + en la protección inmune contra la tuberculosis. Participaron 100 pacientes con TB pulmonar del Shenzhen Third People's Hospital y 50 controles sanos, a los cuales se les hizo seguimiento y control de las subpoblaciones de células T antes y durante el segundo, cuarto y sexto mes de tratamiento antituberculoso, y se compararon con los controles sanos.

Se encontró que los recuentos absolutos de células T CD4 + y sus citocinas producidas por las células TH1: IFN- γ e IL-2 en sangre periférica de pacientes con TB antes del tratamiento fueron significativamente más bajos que los de los controles. Después de 6 meses de tratamiento antituberculoso, los recuentos absolutos de células T CD4 + y las citocinas TH1 en sangre periférica de pacientes con TB se restablecieron en comparación con las del inicio del tratamiento, y estos números fueron comparables a los de los controles sanos. Estos hallazgos implicaron que la recuperación de los niveles de citocinas producidas por las células TH1 podrían ser eventos inmunológicos críticos en pacientes con TB pulmonar

después del tratamiento y sugirieron, además, la importancia de estos parámetros inmunológicos como biomarcadores potenciales para la predicción del progreso y el pronóstico de la TB (5).

Basingnaa A et al., en 2018, desarrollaron una investigación en Ghana, de marzo a septiembre de 2016, con el objetivo de identificar las diferencias en las concentraciones plasmáticas de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias en pacientes con TB MDR y TB sensible. El estudio comprendió dos grupos de poblaciones: 49 pacientes con TB pulmonar MDR y 34 pacientes con TB pulmonar sensible.

Se encontró que las concentraciones plasmáticas de IL-10, IFN- γ y TNF- α se elevaron en pacientes con TB MDR en comparación con pacientes con TB sensible; asimismo, se vio que el nivel plasmático de IL-10 fue relativamente más alto que el de las citocinas IFN- γ y TNF- α . Concluyendo que las citocinas: IFN- γ , TNF- α e IL-10 juegan un papel importante en la respuesta inmune del huésped frente al bacilo tuberculoso (6).

En 2010, Tan Q et al. realizaron un estudio en el Hospital of Nanjing Medical University, Hospital of Zhenjiang City, Center for Disease Control and Prevention (CDC) of Taizhou City, Taizhou, and Jiangbei Hospital. Se investigó la proporción de citocinas producidas por TH1/TH2 en sangre periférica, en 25 pacientes con TBC MDR, 23 pacientes con TBC pulmonar sensible y 30 pacientes grupo control. La detección de las células T y sus subtipos se determinó mediante el análisis de citometría de flujo.

Se evidenció que, en pacientes con TBC, la expresión de citocinas TH1 estuvo disminuida, siendo más notable en pacientes con TBC MDR que en TBC sensible en comparación con controles sanos. Se concluyó que el disturbio entre mecanismos protectores y patogénicos ocasionados por la inmunosupresión de los linfocitos TH1 sería una característica principal en la infección por TBC MDR (7).

Handzel Z et al., en 2007, elaboraron un estudio con el objetivo de evaluar la producción de citoquinas TH1 y TH2 en pacientes con tuberculosis y controles

asintomáticos. La investigación tuvo cuatro grupos: 39 pacientes con tuberculosis aguda, 34 con recaída de tuberculosis, 39 con PPD positivo asintomáticos que tuvieron contactos con pacientes con tuberculosis, 21 PPD-negativo controles asintomáticos. Se realizaron controles séricos de IL-2, IL-6, IL-10, IL-12 e INF- γ . Se concluyó que no hubo deficiencia en la producción de las citoquinas analizadas en pacientes con tuberculosis. Las personas con tuberculosis aguda secretan más citoquinas que los pacientes contactos y estos más que los pacientes controles asintomáticos. Sin embargo, los que tienen mala respuesta al tratamiento producen menos citoquinas que el resto de grupos (8).

Bai X et al., en 2004, realizaron un estudio en The University of Colorado Health Sciences Center, en el que, mediante inmunohistoquímica cuantitativa, compararon la expresión de las citocinas Th1 (IFN-g, IL-12) en resección pulmonar de siete pacientes con TBC MDR con buena respuesta a tratamiento antituberculoso, pero con presencia de cavidades y cuatro sujetos control. Entre sus hallazgos encontraron que en comparación con pulmones sanos, el IFN-g se incrementó en los pulmones con TBC especialmente en la zonas inflamatorias de los granulomas; concluyendo que las citocinas TH1 serían factores importantes en la contención de la infección y formación de granulomas (9).

En 2004, Tan YJ et al. estudiaron los cambios en la concentración de las células T CD4 y su subtipo TH1 en 105 pacientes con TBC pulmonar durante el tratamiento antituberculoso y 25 controles. La investigación determinó que los niveles de las células TH1 fueron significativamente más bajos con respecto al grupo control y en proporción a la gravedad de la enfermedad, y es mucho más baja en pacientes con TBC pulmonar grave que en pacientes con TBC pulmonar moderada o leve.

Asimismo, el nivel de TH1 fue ascendiendo con los meses de tratamiento. El trabajo concluyó que la detección de las Cel T y su subtipo TH1 en sangre periférica son un marcador útil para evaluar el estado de la enfermedad y su respuesta al tratamiento (10).

Wang L et al., en 2002, desarrollaron una investigación que consistió en correlacionar las citocinas TH1/TH2 con la respuesta al tratamiento en 124

pacientes con TBC pulmonar frotis positivo antes del inicio del tratamiento y 100 controles sanos. Se encontró, que los pacientes con frotis positivo después de dos meses de tratamiento, presentaban mayores niveles de IL-4 y menores niveles de INF-g en comparación con aquellos pacientes que se volvieron frotis negativo a los 02 meses de iniciado el tratamiento; asimismo, aquellos pacientes con IFN-g sérico más bajo e IL-4 más alto tuvieron menor respuesta al tratamiento. El trabajo concluyó que en pacientes con TBC pulmonar, los niveles de TH1 se encuentran disminuidos y TH2 elevados (11).

En 2002, Lienhardt et al. realizaron una investigación con el objetivo de medir las concentraciones de TH1/TH2 en pacientes con tuberculosis y cuidadores y su asociación. En este estudio, se tomó como muestra 414 pacientes con tuberculosis HIV-negativo, de Gambia y Guinea y como control, 414 personas de la comunidad y cuidadores. Se realizaron mediciones de la proporción TH1/TH2 al diagnóstico y al final de tratamiento.

Se obtuvo como resultados que al diagnóstico los niveles de TH1 fueron bajos en los pacientes con tuberculosis y los niveles de TH1 fueron altos en los cuidadores y las personas de la comunidad; los niveles de TH2 fueron altos al diagnóstico en los pacientes con tuberculosis y bajos en los cuidadores y personas de la comunidad. Al final del tratamiento, los pacientes curados de tuberculosis tuvieron niveles elevados de TH1 y niveles bajos de TH2 en comparación con pacientes que no se curaron o interrumpieron el tratamiento.

El estudio concluyó que la tuberculosis se asocia con baja actividad TH1 y alta TH2 *in vivo*, mientras que la exposición cercana a la tuberculosis se asocia con una alta relación TH1/TH2. Los pacientes con resultados favorables después del tratamiento exhiben una relación TH1/TH2 más alta, en comparación con los pacientes con resultados clínicos deficientes (12).

Verbon A et al., en 1999, desarrollaron una investigación en Amsterdam, cuyo objetivo consistió en medir la concentración de las citocinas TH1 Y TH2 en pacientes con TB pulmonar activa al inicio y final del tratamiento. Para ello, se estudiaron a 81 pacientes con TBC pulmonar antes del inicio del tratamiento; 15,

con dos semanas de iniciado el tratamiento y 26, con tratamiento completo. Las citocinas fueron medidas mediante método de ELISA. Los resultados mostrados con respecto a las citocinas TH1 fueron los siguientes: el IFN-g se elevó durante la TB activa antes del inicio de tratamiento, lo que disminuye durante y después del tratamiento; la IL-12 no tuvo una diferencia significativa al inicio y final del tratamiento.

Se concluyó que las citocinas que dirigen una respuesta TH1 como la IL-12 no están elevadas en los sueros de un gran grupo de pacientes con TB pulmonar o extrapulmonar activa. Las citocinas que estaban elevadas en suero son IFN-g, IL-6 e IL-10 (13).

Zhang M et al., realizaron un estudio con el objetivo de determinar si la infección por *Mycobacterium tuberculosis* reflejaba alteraciones en el equilibrio de las citocinas T, para ello se evaluó su producción mediante análisis citofluorométrico, en 49 pacientes con TBC pulmonar y 30 personas sanas; se encontró una respuesta reducida de TH1 y sus citocinas INF-g e IL-2, sin cambios significativos en la respuesta TH2 en pacientes con TBC respecto al grupo control.

Asimismo, para comprobar si la disminución de TH1 e INF-g fue permanente o reversible, se hizo un seguimiento a 11 pacientes con TBC pulmonar durante 09 meses de iniciado el tratamiento. Se evidenció una mejora en los niveles de TH1, concluyendo que la terapia antituberculosa se acompañaba de un aumento en los niveles de TH1 (14).

En 1994, Surcel HM et al. desarrollaron una investigación, cuyo objetivo consistió en analizar la proliferación y producción de citoquinas TH2: IL-4 e TH1: INF- γ , tras la estimulación *in vitro* con antígenos del *Micobacterium tuberculosis* en muestras sanguíneas obtenidas de 19 pacientes con tuberculosis activa y 15 controles sanos, se obtuvo que los niveles de IL-4 fue significativamente más elevada que los pacientes control, los niveles de INF- γ no tuvieron variación respecto a los pacientes con tuberculosis activa que los pacientes control.

Se concluyó que el perfil de tipo TH2 demostrado en respuesta a dos antígenos micobacterianos prominentes puede desempeñar un papel en los mecanismos de resistencia defectuosa del huésped en la tuberculosis (15).

2.2 Bases teóricas

Tuberculosis pulmonar (TB)

La TB es una enfermedad infecciosa de origen bacteriano que tiene como principal agente causal al *Mycobacterium tuberculosis* (16,17). Pertenece al orden *Actinomycetae*, de la familia *Mycobacteriaceae* y al género *Mycobacterium*. Es un bacilo intracelular obligado, aerobio estricto, inmóvil, de crecimiento lento y subordinado a la presencia de oxígeno, que se replica dentro de los fagosomas de los macrófagos. Es resistente a los ácidos, alcoholes, álcalis, desinfectantes y desecación, pero sensible al calor, luz solar y luz ultravioleta (18).

La transmisión ocurre de persona a persona por inhalación de gotitas en aerosol de aproximadamente 1 a 5 mm, lo cuales son expulsados por los enfermos al hablar, cantar, estornudar, o toser, y dentro de las cuales el bacilo puede permanecer viable por varias horas (17,19).

Al llegar a los pulmones, estos son ingeridos por la primera línea de defensa el cual son los macrófagos, donde mueren, o persisten y se multiplican. Hay diseminación linfática y hematológica amplia de los microorganismos antes de que se desarrolle una respuesta inmune eficaz en las que las micobacterias son aisladas en todo el cuerpo mediante la formación de los granulomas. Este tipo de infección, llamada tuberculosis primaria suele ser asintomática (20).

La tuberculosis pulmonar primaria progresiva se desarrolla en pocas personas, cuyo sistema inmune no logra contener con éxito la infección primaria. En este caso, la enfermedad puede aparecer unas semanas después de la infección o puede permanecer latente por años y reaparecer después de que la infección inicial ha sido contenida (20).

Se han descrito cuatro posibles consecuencias durante el proceso infeccioso: a) la respuesta puede ser efectiva conduciendo a la eliminación y muerte del bacilo, por lo cual se sabe que el paciente jamás desarrollará tuberculosis clínica; b) la micobacteria no es eliminada en su totalidad y empieza a multiplicarse inmediatamente causando tuberculosis primaria como manifestación clínica; c) el sistema inmunitario logra impedir el crecimiento del bacilo, pero sin causar eliminación total; esto puede sospecharse con positividad a la prueba intradérmica de PPD y, d) los microorganismos que han estado latentes, ya que no fueron eliminados, eventualmente vuelven a multiplicarse causando una reinfección (20).

Los mecanismos, a través de los cuales en algunos individuos se logra una respuesta inmunitaria suficiente para contener la infección micobacteriana, mientras que en otros, esta es ineficaz y permite la progresión de la enfermedad hacia TB clínicamente manifiesta, aún no han sido esclarecidos (20).

Respuesta inmune del huésped contra M. tuberculosis

Respuesta inmune innata

La mayor parte de los bacilos al entrar a las vías respiratorias superiores quedan atrapados en los cilios y son expulsados por el barrido ciliar de las células de la mucosa, pero una parte de ellos, que por lo general es menos del 10%, llegan hasta los alveolos (17). Ahí los macrófagos alveolares (MA) que no han sido activados fagocitan a los bacilos y proveen una primera línea de defensa (17,19). Luego de este primer encuentro, las células dendríticas (CD) y los macrófagos derivados de monocitos también forman parte del proceso fagocítico (17,21). Después de la fagocitosis, los fagosomas maduran y se fusionan con endosomas y lisosomas. El ambiente pasa a ser ácido y pobre en nutrientes, y la bacteria se expone a péptidos antimicrobianos y enzimas de degradación del lisosoma, como la lisozima (20).

Sin embargo, las micobacterias patógenas han desarrollado mecanismos para evitar las defensas del hospedador, por ejemplo bloqueando la maduración del fagosoma. Si el bacilo tuberculoso detiene con éxito la maduración del fagosoma, entonces inicia su replicación y el macrófago finalmente se rompe y libera sus contenidos bacilares (17).

Pese a ello, la activación de los macrófagos por la citocina Interferón- γ (IFN- γ) promueve la destrucción bacteriana a través de la formación de intermediarios reactivos de oxígeno (IRO) e intermediarios reactivos de nitrógeno (IRN). Los macrófagos activados también liberan un conjunto de citocinas y quimiocinas, incluyendo el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), que inducen una respuesta proinflamatoria y dirige a las células inmunitarias al sitio de infección (17,19).

En resumen, esta respuesta inicial determina el crecimiento local de *M. tuberculosis* o la contención de la infección por los macrófagos. Las células fagocíticas poseen un rol clave en el inicio de la respuesta local inflamatoria y en el comienzo de la inmunidad mediada por células (21).

Respuesta inmune adaptativa

Como se mencionó, tras darse la fagocitosis, el *M. tuberculosis* es incluido en un fagosoma para formar el fagolisosoma donde es destruido por los mecanismos bactericidas y proteolíticos de los macrófagos con la consecuente generación de péptidos y otros antígenos. Los antígenos micobacterianos de naturaleza proteica son acoplados a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I (MCH I) y presentados por los macrófagos a los linfocitos T CD8+; o , acoplados a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MCH II) y presentados a los linfocitos T CD4+; mientras que los antígenos de naturaleza glicolipídica (fosfatidil manósidos, lipoarabinomananas, ácidos micólicos y hexosil-1-fofoisoprenoides) son acoplados con moléculas CD1 y presentados a los linfocitos CD8+ y dobles negativos (CD4-CD8-) (19,20).

El proceso de presentación de antígenos es un paso esencial en la transición de la respuesta inmune innata a la respuesta inmune adaptativa, que se fundamenta en el reconocimiento específico de los antígenos por los diversos tipos celulares que se activan y producen citocinas y quimiocinas (19).

Los linfocitos T CD4 activados pueden diferenciarse en células TH1 y TH2 capaces de producir diferentes citocinas (17). Las células TH1 liberan citocinas propias de la inmunidad celular mientras que las células TH2 expulsan mediadores vinculados con la inmunidad humoral. La desviación hacia una u otra población dependerá del

mediador involucrado, por ejemplo, para la diferenciación hacia linfocitos TH1 se requiere la presencia de la IL-12 producida por las células dendríticas, macrófagos y monocitos provenientes de la circulación sanguínea (22).

Se ha visto, que la subclase TH1, son importantes en el control de la tuberculosis. Estas células actúan a través de quimiocinas y citocinas que tienen potente actividad biológica. Las quimiocinas actúan atrayendo nuevas células mononucleares, mientras que las citocinas actúan a través de otras células como mediadores químicos, principalmente sobre los macrófagos alveolares (22).

Las citocinas producidas por los linfocitos TH1 tales como IL-2, TNF- α (linfotóxina) e IFN- γ promueven la respuesta inmune celular y la activación de macrófagos, éstos al ser activados aumentan de tamaño y se llenan de grandes retículos endoplasmáticos, vacuolas y mitocondrias, con enzimas oxidativas, nitrogenadas y lisosomales.

Todo ello permite que puedan sintetizar enzimas proteolíticas, radicales de oxígeno, óxido nítrico (ON) e hidrolasas lisosomales que inducen los mecanismos bactericidas para eliminar a la micobacteria. A su vez, los macrófagos producen IL-1 e IL-2, que promueven la expansión clonal de los linfocitos T CD4⁺ y su activación, que resultará en una mayor producción de IFN- γ (3, 19, 20, 22).

En contraste, la subpoblación TH2, parece predominar en las formas progresivas de tuberculosis. Estas células producirán grandes cantidades de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, las cuales favorecen la respuesta inmunitaria contra patógenos extracelulares. Las IL-4, IL-10 e IL-13 tienen la capacidad de modular negativamente la respuesta Th1 y conforme a este esquema general, la protección contra organismos intracelulares como *M. tuberculosis* depende de la cooperación TH1 (20,22).

En modelos experimentales, se ha evidenciado que durante el primer mes de infección por el bacilo tuberculoso existe una predominancia de los linfocitos TH1, mientras que cuando la enfermedad progresa aparece un patrón TH1/TH2 (22).

Se ha sugerido que la falla de la respuesta inmune en tuberculosis podría explicarse por una respuesta TH1 débil o suprimida (21). Aunque la supresión de las respuestas TH1 podría ocurrir por la acción de citoquinas inhibitorias, en la mayoría de las respuestas frente a micobacterias se observa una fuerte producción de IFN- γ , sin embargo, no se logra eliminar definitivamente a *M. tuberculosis* (21). Aún no está de todo claro, el papel que cumplen las células TH1, pero estudios sugieren que hay una disminución y/o supresión en aquellos pacientes multidrogoresistentes en comparación con los pacientes sanos (13).

Citocinas producidas por los linfocitos TH1

IL-2

La interleucina 2, llamada también factor de crecimiento de las células T, es una glicoproteína monomérica con un peso de 15.400 D, codificada por un gen ubicado en el cromosoma 4. Es secretada en grandes cantidades por los linfocitos T, las células Natural Killer (NK) o las células dendríticas, cuando se activan al entrar en contacto con un agente potencialmente dañino para el huésped. Una función principal de la IL-2 es promover la proliferación de las células T CD4 y T CD8 al unirse a un receptor específico que se expresa en la superficie celular, además modula las funciones inmunológicas de las células T, NK y B (23).

Interferón gamma (IFN- γ)

El IFN- γ es una citocina crucial en el control de infecciones causadas por bacterias intracelulares como *M. tuberculosis* (19, 20, 21). Las principales fuentes de IFN- γ son los linfocitos T y las células NK. La interacción del IFN- γ con su receptor (IFNR) activa a los macrófagos al inducir la expresión de más de 200 genes que codifican para proteínas involucradas en la respuesta inmune tales como: MHC I, MHC II, iNOS, p48, TAP 1, LAMP-2, etcétera (19).

El IFN- γ induce la producción de intermediarios de oxígeno (ROI), intermediarios de nitrógeno (RNI), acidificación del fagosoma y fusión fagosomalisoma, la expresión de la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) para la producción NO a partir de L-arginina como sustrato, la producción de α y β defensinas, la disminución del receptor de transferrina para reducir el hierro (Fe) intracelular y de esta manera limitar el desarrollo de la micobacteria, aumento en las moléculas MHC I y MHC II

involucradas en la presentación de antígenos proteicos y aumento en la capacidad para fagocitar e inducir la producción de IL-12 (19).

En la tuberculosis pulmonar se ha descrito que existe una relación entre la producción de IFN- γ y las manifestaciones clínicas de la enfermedad; mientras más severa es la enfermedad, las células mononucleares de sangre periférica producen niveles más bajos de IFN- γ (3,19). Por otro lado, se ha utilizado IFN- γ en aerosol con fines terapéuticos en pacientes con tuberculosis pulmonar, los cuales tuvieron baciloscopías negativas, disminución de carga micobacteriana, disminución de cavidades pulmonares y aumento de peso posteriores al tratamiento (19).

Estudios realizados en enfermos con tuberculosis pulmonar mostraron que la expresión del gen IFN- γ se encuentra disminuida; sin embargo, se observó un incremento de la expresión de este gen después del tratamiento antituberculoso, hecho que sugiere que la presencia de *M. tuberculosis* causa alteraciones importantes en el sistema inmune, reversibles al disminuir la carga bacteriana (19).

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

El TNF- α es producido principalmente por los monocitos, macrófagos y linfocitos T activados y participa en múltiples mecanismos de la respuesta inmune (19, 20,21). Asimismo, actúa en forma sinérgica con el IFN- γ para inducir la expresión de la enzima iNOS, involucrada en la producción de NO que participa en la destrucción de *M. tuberculosis* junto con los intermediarios de oxígeno. A pesar de que el papel de NO es controversial en humanos, los altos niveles de iNOS observados en pacientes con TB pulmonar, en comparación con sujetos sanos, sugieren la importancia de esta enzima y su participación en el control de la infección (19).

2.3 Definición de términos básicos

Mycobacterium tuberculosis: Bacteria aerobia estricta patógena responsable de la mayor cantidad de casos de tuberculosis en el mundo (22).

Macrófagos: Células del sistema inmune que se encuentran en los tejidos y que tienen la función de fagocitar los cuerpos extraños que entran en el organismo (22).

Células dendríticas: Células de la inmunidad innata, que fagocitan patógenos. Su función primordial es procesar el material antigénico, regresarlo a su superficie y presentarlo a las células T (22).

Complejo mayor de histocompatibilidad: Es una región de genes, los más conocidos son los de clases I y II, cuyos productos resultan esenciales para la especificidad inmunitaria, en palabras sencillas permite distinguir lo propio de lo extraño (22).

Células T: Son parte de la inmunidad adaptativa y se forman a partir de las células madre en la médula ósea. Ayudan a proteger al cuerpo de las infecciones. Los linfocitos T se dividen en función de la expresión de su receptor en CD4 o CD8 (22).

Linfocitos TH1: Son linfocitos T cooperadores o linfocitos T CD4+. Producen liberación de IL-2, IFN- γ , TNF- α (22).

Linfocitos TH2: Son linfocitos T cooperadores o linfocitos T CD4+. Se caracterizan por producir IL-4, IL-5 e IL-13 (22).

Citocinas: son proteínas que regulan la función de las células que las producen sobre otros tipos celulares. Se encargan de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores de membrana, proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas. Son producidas fundamentalmente por los linfocitos y los macrófagos activados (22).

Quimiocinas: Son una familia de citocinas, encargadas de la migración celular desde la sangre hacia los tejidos (22).

Tuberculosis primaria: Se produce en un paciente que no haya tenido contacto anterior con el bacilo (24).

Tuberculosis pulmonar: Persona con diagnóstico de tuberculosis con compromiso del parénquima pulmonar (24).

Caso de TB pansensible: Cuando hay sensibilidad a todos los medicamentos de primera línea por pruebas de sensibilidad convencional (24).

Caso de TB multidrogorresistente (TB MDR): Caso con resistencia simultánea a isoniacida y rifampicina por pruebas convencionales (24).

Esquema empírico TB MDR: el tratamiento del paciente multidrogorresistente se divide en 2 fases. La primera dura de 6-8 meses donde el paciente toma los siguientes fármacos: etambutol, pirazinamida, levofloxacino, kanamicina, etionamida y cicloserina. Luego, la segunda fase dura entre 12-18 meses y se continúa con: etambutol, pirazinamida, levofloxacino, etionamida y cicloserina. La terapia es diaria excepto los domingos. La duración de cada fase depende de la evolución clínica, baciloscópica y radiológica del paciente (24).

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Formulación de la hipótesis

La expresión de linfocitos TH1 en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente se encuentra disminuido antes del inicio de tratamiento antituberculoso, pero aumenta al término del tratamiento.

3.2 Variables y su operacionalización

Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías y sus valores	Medio de verificación
TH1	Es un tipo de linfocitos T CD4 productores de citocinas	Cuantitativa	Producción de Citocinas	Citómetro de flujo BD FACS Canto II más kit de Cytometric Bead Array (CBA)	IL-2: -Menor a 8.0 pg/mL -8.0–29.0 pg/mL -mayor a 29.0 pg/mL TNF- α : -Menor a 4.0 pg/mL -4.0–15.4 pg/mL -Mayor a 15.4 pg/mL IFN- γ : -Menor a 6.2 pg/mL -6.2–15.6 pg/mL -Mayor a 15.6 pg/mL	BD™ Cytometric Bead Array Software versión 1.4
TBC pulmonar	Pacientes con diagnóstico de tuberculosis con compromiso pulmonar	Cualitativa	Prueba de sensibilidad a 1 línea	Nominal	Sensible MDR	Historia clínica
Evolución clínica	Evaluación de síntomas como fiebre y tos en el tiempo	Cualitativa	Síntomas (fiebre, tos)	Nominal	Favorable Estacionaria Desfavorable	Historia clínica

Evolución radiológica	Evaluación de los infiltrados radiológicos a través del tiempo.	Cualitativa	Infiltrados radiográficos	Nominal	Favorable Estacionaria Desfavorable	Historia clínica
Tratamiento	Tiempo expresado en meses que el paciente lleva recibiendo el esquema empírico TBC MDR	Cualitativa	Meses	Ordinal	Mes inicio * Mes final **	Historia clínica
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Cuantitativa	Años	De razón	18-25 ^a 26-59 ^a 60 a +	Historia clínica
Sexo	Características biológicas de cada individuo	Cualitativa	Género	Nominal Dicotómica	Femenino Masculino	Historia clínica

*Corresponde al mes 0.

**Corresponde al mes que el paciente termine el tratamiento, según la duración de cada fase.

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Tipos y diseño

Según la intervención del investigador: Es observacional.

Según el alcance: Es analítico.

Según el número de mediciones de la o las variables de estudio: Es longitudinal

Según el momento de la recolección de datos: Es prospectivo.

4.2 Diseño muestral

Población universo

Pacientes con tuberculosis tratados en un hospital.

Población de estudio

Pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante 2021.

Tamaño de la muestra

Todos los pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente que acuden al Programa de Tuberculosis en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021: 150.

Muestreo

Censal, pues la muestra es igual a la población.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

Pacientes mayores de 18 años diagnosticados de tuberculosis pulmonar MDR confirmado con cultivo de esputo positivo y prueba de sensibilidad a 1 línea atendidos en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante 2021.

Criterios de exclusión

Pacientes con otras comorbilidades (VIH, DM2, cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades hematológicas, inmunosupresión)

Gestantes

Lactantes

Pacientes con enfermedades hepáticas o renales

No estar de acuerdo con participar en la investigación

Pacientes con reacción adversa a medicamentos antituberculosos de 1 y 2 línea

4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos

La citometría de flujo es una técnica que permite analizar de manera rápida las características celulares mediante la dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células mientras pasan por un haz luminoso. Las señales de luz producidas se convierten en impulsos de electricidad que se amplifican y se transforman en señales digitales que luego son procesadas por una computadora (25).

El kit de Cytometric Bead Array (CBA), que se usará en la investigación, emplea perlas de diferentes tamaños cubiertas por fracciones de anticuerpos. El anticuerpo se une con una citoquina determinada y a su vez con otro anticuerpo marcado con un fluorocromo y se forma un complejo que pasa por el haz de luz. De esta manera, es posible determinar la concentración celular mediante la intensidad de la fluorescencia (25). Este kit de CBA permite la detección de citoquinas humanas TH1 en una sola muestra de sobrenadante de cultivo de células mononucleares de sangre periférica (PBMC).

Firma de consentimiento y toma de muestra

Previo consentimiento informado a cada uno de los pacientes que ingresarán a la investigación, se procederá a tomar la muestra mediante la extracción de 5ml de sangre periférica de los participantes, por la mañana y en ayunas. Esta se obtendrá al momento del diagnóstico de tuberculosis pulmonar, a los 12 meses de iniciado el tratamiento y al día siguiente de la última dosis del tratamiento.

Al recibirse la muestra, se le asignará un número al tubo para su correcta identificación acompañado de las iniciales del paciente, según fuera tomada al momento del diagnóstico, a los 12 meses y al día siguiente de la última dosis del tratamiento.

Obtención de los PBMC

A las muestras se les realizará el aislamiento de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Las PBMC serán obtenidas por centrifugación en gradiente de densidad con Histopaque 1,077 g/mL. Para ello, se prepararan tubos con 1mL de Histopaque. Las muestras de sangre serán diluidas 1:1 con RPMI-1640 completo (Sigma, St Louis, MO, USA). La sangre diluida (3mL) será agregada sobre el Histopaque y centrifugada a 400 g por 30 min. Finalmente, las PBMC serán colectadas para ser procesadas en un citómetro de flujo.

Análisis de TH1

Se utilizará el CBA para la detección de las citoquinas de la serie: Th1 (IL-2, TNF- α , IFN- γ), siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante.

La adquisición de datos se realizará usando un citómetro de flujo FACSCalibur, dentro de las 24 horas post ensayo y los resultados serán analizados por el software BD™ Cytometric Bead Array Software, versión 1.4

Los niveles séricos normales descritos para las citoquinas a estudiar corresponden a:

- IL-2: 8.0–29.0 pg/mL (26)
- TNF- α : 4.0–15.4 pg/mL (26)
- IFN- γ : 6.2–15.6 pg/mL (26)

4.4 Procesamiento y análisis de datos

Todos los datos serán analizados usando el programa STATA versión 15. Se utilizará ANOVA para analizar las diferencias de las variables entre los grupos de estudio, con prueba de post hoc LSD. Las diferencias serán consideradas estadísticamente significativas con una $p \leq 0.05$.

4.5 Aspectos éticos

Con el fin de garantizar una consciente y libre participación de los pacientes voluntarios, todos serán informados acerca del procedimiento y a cada uno de ellos se le otorgará un consentimiento informado.

PRESUPUESTO

Concepto	Monto estimado (soles)
Material de escritorio	200.00
Adquisición de software	900.00
Internet	200.00
Impresiones	300.00
Logística	300.00
Traslados	700.00
Alquiler de Citómetro de flujo BD ACS	3000.00
Kit de CBA	4000.00
TOTAL	9 500.00

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ministerio de Salud del Perú. Análisis de la Situación Epidemiológica de la Tuberculosis en el Perú, 2015. Disponible en: http://www.dge.gob.pe/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=599&Itemid=204
2. Herrera MT, Torres M, Juarez E, Sasa E. Mecanismos moleculares de la respuesta inmune en la tuberculosis pulmonar humana. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2005; 18(4): 327-336.
3. Rosas Taraco A, Arce Mendoza A. Tuberculosis: mecanismos de defensa, inmunopatogenesis y biomarcadores. Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León; 1-7 (internet). Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/1829>
4. Xu H, Yang Y, et al. Th1/Th2 imbalance and Elevated PD-L1 in Pleural Effusion Predict the Risk of Multi-Drug Resistant Tuberculous Pleuritis. Iran J Immunol. 2020; 17(1):1-13. Disponible en: <https://doi.org/10.22034/iji.2020.80290>.
5. G. Li, F. Yang, X. He, Z. Liu, J. Pi, Y. Zhu, X. Ke, S. Liu, M. Ou, H. Guo, Z. Zhang, G. Zeng, G. Zhang, Anti-tuberculosis (TB) chemotherapy dynamically rescues Th1 and CD8+ T effector levels in Han Chinese pulmonary TB patients, Microbes and Infection, <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.10.001>.
6. Basingnaa A, Antwi-Baffour S, et al. Plasma Levels of Cytokines (IL-10, IFN- γ and TNF- α) in Multidrug Resistant Tuberculosis and Drug Responsive Tuberculosis Patients in Ghana. Diseases 2019, 7, 2; doi:10.3390/diseases7010002.
7. Tan Q, Xie W, Min R, et al. Characterization of Th1- and Th2-type immune response in human multidrug-resistant tuberculosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31:1233–1242.

8. Handzel Z, Barak V, Altman Y, et al. Increased Th1 and Th2 Type Cytokine Production in Patients with Active Tuberculosis. *IMAJ*. 2007; 9: 479-483.
9. Bai X, Wilson S, Chmura K, et al. Morphometric analysis of Th1 and Th2 cytokine expression in human pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis*. 2004; 84: 375–385.
10. Tan YJ, Zhang YN, Feng DY, et al. The change and the clinical significance of peripheral blood Th1/Th2 cells in patients with pulmonary tuberculosis. [Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi](#). 2004 Jun;27(6):385-9.
11. Wang L, Cai Y, Cheng Q, Hu Y, Xiao H. Imbalance of Th1/Th2 cytokines in patient with pulmonary tuberculosis. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2002 Sep; Vol. 25 (9), pp. 535-7.
12. Lienhardt C, Azzurri A, Amedei A, et al. Active tuberculosis in Africa is associated with reduced Th1 and increased Th2 activity in vivo. *Eur. J. Immunol*. 2002. 32: 1605–1613.
13. Verbon A, Juffermans N, Speelman P, et al. Serum concentrations of cytokines in patients with active tuberculosis (TB) and after treatment. *Clin Exp Immunol* 1999; 115:110-113.
14. Zhang M, Lin Y, Iyer D, et al. T-Cell Cytokine Responses in Human Infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Inf and Immunity*. 1995. 63(8): 3231-3234.
15. Surcel H, Troye M, Paulie S, et al. Th1/Th2 profiles in tuberculosis, based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens. *Immunology* 1994 81 171-176.
16. Organización Mundial de la Salud. Definiciones y marco de trabajo para la notificación de Tuberculosis– Revisión 2013, disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/111016/1/9789243505343_spa.pdf.

17. Raviglione M, OBrien R. Tuberculosis. In: Loscalzo J, MD, PhD, editors. HARRISON Neumología y cuidados intensivos. Mexico: McGraw-Hill;2010. p. 115-138.
18. Ramirez N, Cocotle B, Mendez A, et al. Mycobacterium tuberculosis: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa. Rev Med Univ Vera. 2002. 2(2): 39-43.
19. Herrera MT, Torres M, Juarez E, Sasa E. Mecanismos moleculares de la respuesta inmune en la tuberculosis pulmonar humana. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2005; 18(4): 327-336.
20. Araujo Z, Acosta M, Escobar H, et al. Respuesta inmunitaria en tuberculosis y el papel de los antígenos de secreción de Mycobacterium tuberculosis en la protección, patología y diagnóstico. Invest Clin. 2008. 49(3): 411 – 441.
21. Nuñez C, Lozada I, Ysmodes T, et al. Inmunomodulación de Uncaria tomentosa sobre células dendríticas, IL-12 y perfil TH1/TH2/TH17 -en cáncer de mama, disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/1753>
22. Farga V, Caminero J. Tuberculosis. 3ª ed. Santiago de Chile: Elsevier; 2011.
23. Gaffen SL, Liu KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. Cytokine. 2004 Nov 7;28(3):109-23.
24. Ministerio de Salud del Perú. Norma Técnica de Salud para la Atención Integral de las Personas Afectadas por Tuberculosis, 2018. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/186939/Resolucion_Ministerial_752-2018-MINSA.PDF
25. Brown M, Wittwera C. Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Clinical Chemistry. 2000; 46(8):1221-1229

26. Iglesias A, Rojas C. Citoquinas, moléculas de adhesión, endotelinas e índice de anormalidad capilar en fenómeno de Raynaud. Acta Médica Colombiana Vol. 24 N° 6. Noviembre-Diciembre - 1999

ANEXOS

1. Matriz de consistencia

TÍTULO	PREGUNTA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO	POBLACIÓN DE ESTUDIO Y PROCESAMIENTO DE DATOS	INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN
Variabilidad de linfocitos TH1 antes y después del esquema empírico para tuberculosis pulmonar multidrogorresistente en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz 2021	¿Cuál es la variabilidad de los valores de los linfocitos TH1 antes y después del esquema empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021?	<p>General</p> <p>Determinar la variabilidad de los valores de los linfocitos TH1 antes y después del esquema empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.</p>	La expresión de linfocitos TH1 en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente se encuentra disminuido antes del inicio de tratamiento antituberculoso, pero aumenta al término del tratamiento.	Diseño observacional, longitudinal, prospectivo, analítico.	<p>Pacientes con Tuberculosis pulmonar multidrogorresistente y tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.</p> <p>Todos los datos serán analizados usando el programa STATISTICA (data analysis software system) Versión 7. Se usará ANOVA para analizar las diferencias de las variables entre los grupos de estudio, con prueba de post hoc LSD. Las diferencias serán consideradas estadísticamente significativas con una $p \leq 0.05$.</p>	<p>Historia clínica</p> <p>Citómetro de flujo BD FACS Canto II más kit de Cytometric Bead Array (CBA)</p>
		<p>Específicos</p> <p>Cuantificar la expresión de Linfocitos TH1 que existe antes del inicio del tratamiento empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar mediante la producción de sus citocinas inflamatorias: IL-2, IFN-γ, TNF-α, tratados en el</p>				

		<p>Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.</p> <p>Cuantificar la expresión de linfocitos TH1 que existe al término del tratamiento empírico multidrogorresistente en pacientes con tuberculosis pulmonar mediante la producción de sus citocinas inflamatorias: IL-2, IFN-γ, TNF-α, tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.</p> <p>Comparar la producción de citocinas por los Linfocitos TH1 y la respuesta al tratamiento en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.</p> <p>Comparar la producción de citocinas por los Linfocitos TH1</p>				
--	--	--	--	--	--	--

		en pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente según edad y sexo, tratados en el Complejo Hospitalario PNP Luis Nicasio Sáenz durante el 2021.				
--	--	--	--	--	--	--

2. Instrumento de recolección de datos

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1. Historia clínica:

2. Edad:

3. Sexo:

4. Fecha de Nacimiento:

5. Fecha de diagnóstico: /...../..... (dd/mm/aa)

6. Prueba de sensibilidad del paciente: R: resistente S: sensible

Laboratorio	Código	Fecha de Muestra	R	H	Z	E

7. Inicio de tratamiento: /...../..... (dd/mm/aa)

8. Dosaje de citocinas según kit de Cytometric Bead Array (CBA)

	IL-2	IFN- γ	TNF- α
Al momento del diagnóstico (mes inicio)			
Al día sgte de culminado el tto (mes final)			

9. Término de tratamiento

Fecha de término de tratamiento:/...../..... (dd/mm/aa)

Condición de egreso: curado () tto completo () fracaso ()

10. Evolución clínica: (marca con un x donde corresponda)

Favorable () Estacionaria () Desfavorable ()

11. Evolución radiológica:

Favorable () Estacionaria () Desfavorable ()

3. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Investigador: M. C. Janeth Cuyubamba García

Propósito del estudio

El estudio tiene como objetivo determinar los valores de sus defensas (linfocitos TH1) al inicio y al final del tratamiento antituberculoso.

En nuestro país existe un ascenso gradual en las formas resistentes de tuberculosis pulmonar, y hasta el día de hoy no se ha podido entender porque algunos individuos son más susceptibles a crear resistencia a los tratamientos antituberculosos.

Se ha observado en algunos estudios que los pacientes con tuberculosis pulmonar multidrogorresistente presentan una disminución o supresión de unas células de defensa, pero aun esta evidencia es controversial.

Procedimiento

Si usted acepta participar en este estudio se le tomará una muestra de sangre de 5ml del antebrazo, al momento del diagnóstico de tuberculosis pulmonar y al día siguiente de la última dosis del tratamiento, para ver los valores de sus defensas y las sustancias que las controlan. La recolección de la muestra la realizará personal de laboratorio debidamente entrenado.

Riesgos

La toma de muestra de sangre es un poco incómoda debido al pinchazo, y puede que le ocasione un pequeño hematoma (moretón) el cual desaparecerá con los días. Además, existe un riesgo muy pequeño de que se le pueda infectar si no se mantiene la higiene adecuada.

Beneficios

Ud. se beneficiará de conocer los valores sanguíneos de sus defensas y de las moléculas que controlan su función. Se le informará de manera personal y confidencial los resultados que se obtengan de los exámenes realizados.

Costos

Los costos de los exámenes serán cubiertos por el estudio y no le ocasionarán gasto alguno.

Privacidad en el resultado

Los resultados obtenidos en este estudio serán mantenidos en estricta reserva y solamente serán manejados por el personal responsable del estudio.

Participación voluntaria

Será Ud. la persona quien decida su participación o no en esta investigación. Usted podrá retirarse de la investigación en cualquier momento sin daño alguno.

Si tuviera alguna duda adicional o preguntas sobre los aspectos éticos del estudio por favor preguntar al personal del estudio o llamar a la Dra. Janeth Cuyubamba García María al teléfono 984 165 142 o al correo electrónico: janeths_cg@hotmail.com

Una copia de este consentimiento informado le será entregada.

Declaración voluntaria del participante

Yo, _____ de _____ años de edad, con DNI No. _____ luego de haber leído y entendido el contenido de este documento, ACEPTO participar en este estudio y que la muestra de sangre tomada sea utilizada y analizada durante esta investigación, confirmando mi participación mediante la firma de este documento en presencia de la persona quien obtiene el consentimiento.

..

**Nombres y apellidos
participante**

Fecha y hora

**Nombres y apellidos
testigo (si el participante es
analfabeto)**

Fecha y hora

**Nombres y apellidos
investigador**

Fecha y hora