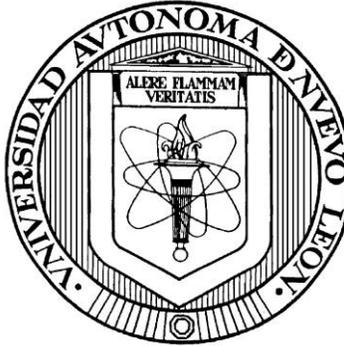


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



Inmunidad celular y humoral en pacientes diabéticos con tuberculosis y su respuesta al tratamiento antituberculosis

Por

DR. ERICK JOEL RENDÓN RAMÍREZ

Como requisito para obtener el Grado de

DOCTOR EN MEDICINA

Enero 2024

Inmunidad celular y humoral en pacientes diabéticos con tuberculosis y su respuesta al tratamiento antituberculosis

Aprobación de la tesis:

Dr. Med. Adrian Rendón Pérez
Director de la tesis

Dr. C. Adrián Geovanni Rosas Taraco
Co-Director

Dra. Alma Yolanda Arce Mendoza
Miembro

Dr. med. Fernando Mata Avalos
Miembro

Dr. med. Jorge Martín Llaca Díaz
Miembro

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA

A Dios, mi familia, sobre todo esposa e hijos por ser mi fuente de Inspiración .

AGRADECIMIENTOS

A Dios y mi familia por ser el pilar más importante que rige mi vida.

A mi director y co director de tesis por sentar las bases para este extraordinario trabajo.

A mis colegas co autores y profesores que participaron en mi formación académica.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESUMEN	1
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 Justificación	7
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	8
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	9
4.1 Objetivo general	9
4.1 Objetivos específicos	9
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	10
5.1 Diseño	10
5.2 Metodología del estudio	10
5.2.1 subpoblaciones linfocitos	10
5.2.2 Inmunidad celular	11
5.2.3 Anticuerpos anti TB	12
5.3 Análisis estadístico	12
Capítulo VI	
6. RESULTADOS	13

6.1 Datos demográficos y perfil metabólico.....	13
6.2 Inmunidad celular basal PPD y Quantiferon	13
6.3 Subpoblaciones linfocitarias T CD4 y CD8 basal y post TX....	16
6.4 Evaluación anticuerpos IgM e IgG anti-TB	17
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	18
Capítulo VIII	
8. CONCLUSIÓN	22
Capítulo IX	
9.- BIBLIOGRAFÍA	23
Capítulo XI	
10.- RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO	28

LISTA DE ABREVIATURAS

DM: Diabetes Mellitus

TB: Tuberculosis

PPD: Derivado proteico purificado

MTB: Mycobacterium tuberculosis

QFT-Plus: Quantiferon TB Gold Plus

LTBI : Infección por Tuberculosis latente

IFN- γ : Interferon Gama

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

OMS: Organización Mundial de la Salud

DOTBAL: Tratamiento antituberculosis

TB MDR : Tuberculosis Multidrogoresistente

TB XDR: Tuberculosis extremadamente resistente

CAPÍTULO I

1. RESUMEN

Introducción: La Diabetes mellitus (DM) y la tuberculosis (TB) representan un grave problema de salud pública en el mundo y principalmente en nuestro país. La prevalencia actual de TB se estima de 10.6 millones de casos a nivel mundial y causa 1.6 millones de muertes anuales. Por otro lado, la DM se estima en 527 millones de pacientes y causa 6.7 millones muertes anuales y se espera un incremento a 783 millones para 2045. Existe evidencia de la asociación de la DM con el aumento en la gravedad de la TB, incremento de TB multi-drogoresistente (MDR); un metanálisis reciente reportó un riesgo de 3.1 veces más de adquirir TB en pacientes con DM, en gran parte por el deterioro de la inmunidad innata y adaptativa que predispone a los pacientes con DM a desarrollar tuberculosis activa.

Objetivo: Identificar alteraciones en la inmunidad celular y humoral en pacientes diabéticos con TB y su respuesta al tratamiento anti-TB.

Métodos: Estudio observacional, comparativo y prospectivo en el que se reclutaron 62 pacientes divididos en 4 grupos:

- Pacientes con TB y DM
- Pacientes con solo TB
- Pacientes con solo DM
- Controles sanos

Se realizaron evaluaciones basales a los 4 grupos de perfil bioquímico, evaluación de poblaciones de linfocitos, anticuerpos anti-TB, PPD y quantiferon, solo se repitieron estos estudios a los 2 meses a los pacientes con TB activa quienes recibieron tratamiento anti-TB.

Resultados: La evaluación de células T CD4+ se realizó por citometría de flujo y se encontraron valores absolutos más bajos en pacientes con TB-DM en comparación con aquellos con solo TB o solo DM estadísticamente significativo ($P<0.05$) y estos niveles se mantuvieron bajos incluso después de dos meses del tratamiento anti-TB. Los niveles absolutos de células T CD8+ fueron más altos en el grupo de solo DM.

Los niveles basales de anticuerpos IgM anti-TB se encontraban elevados en pacientes con TB y persistieron 2 meses después del tratamiento anti-TB, los niveles del anticuerpo IgG anti-TB no mostraron cambios significativos. Adicionalmente, se identificaron 40% de casos de TB latente en pacientes diabéticos empleando Quantiferon en los cuales el PPD dio resultados falsos negativos.

Conclusión: Nuestros resultados evidencian una alteración en la inmunidad tanto celular como humoral en pacientes con TB-DM la cual no se normaliza posterior a tratamiento anti-TB.

CAPÍTULO II

2. INTRODUCCIÓN

La Diabetes mellitus (DM) y la tuberculosis (TB) representan un grave problema de salud pública en el mundo y principalmente en nuestro país(1,2). La prevalencia actual de TB es de 10.6 millones de casos a nivel mundial y 1.6 millones muertes anuales(3,4). Por otro lado existen 527 millones de pacientes portadores de DM con 6.7 millones de muertes anuales asociadas y se espera un incremento a 783 millones para 2045(3,4). Existe evidencia de que la DM se encuentra asociada con un aumento en la gravedad de la TB, Multidrogoresistencia (MDR) y un metanálisis reciente reportó un riesgo de 3.1 veces de adquirir TB en pacientes con DM (5,6,7,8). Desde hace mas de 1 siglo se conoce la relación entre estas dos enfermedades y en base a las cifras previamente reportadas se ha incrementado la presentación dual de estas dos enfermedades, en gran parte por el deterioro de la inmunidad innata y adaptativa que predispone a los pacientes con DM a desarrollar tuberculosis activa (5,6). Esto explica por que en países como la India tienen tasas muy altas reportadas de estas dos enfermedades co-existentes, identificando hasta un 25.3% de DM en pacientes con TB y 24.5% de pre-diabetes en pacientes con TB activa.(9).

A diferencia de otros estados inmunosupresores que aumentan la presentación extrapulmonar de tuberculosis, la inmunosupresión condicionada por DM tiene baja incidencia de TB extrapulmonar, se cree que esto es secundario a una Inmunodisregulación del sistema inmune celular el cual en pacientes DM da una

respuesta adecuada para evitar propagación extrapulmonar pero inadecuada para impedir la diseminación intrapulmonar (7,8). Estas enfermedades co-existentes van de la mano con desnutrición proteico-calórica, los cuales deterioran aún más la inmunidad contra tuberculosis (5).

Los estudios que analizan la respuesta inmune innata y adaptativa ante microorganismos patógenos en pacientes diabéticos sugieren que estas respuestas se encuentran comprometidas. En pacientes con TB-DM no se encuentra totalmente dilucidado el mecanismo de inmunosupresión, sin embargo se considera es probable sea secundaria a inmunodisregulación de la inmunidad celular en la cual tiene participación directa el síndrome metabólico y hemoglobina glicosilada.

Algunos estudios han encontrado un mayor grado de dislipidemia de predominio triglicéridos y niveles de hemoglobina glucosilada mas elevados en pacientes con DM y TB comparado con pacientes con DM sin TB (10,11,12,13,14).

Ahora considerando las bases de inmunidad protectora contra MTB, existen dos mecanismos de inmunidad contra el bacilo de tuberculosis de gran relevancia (inmunidad Innata y adaptativa) La Inmunidad Innata se presenta al Adquirir el bacilo de tuberculosis por medio de inhalación, el cual es atrapado en la mucosa y contenido dentro de macrófagos alveolares, pero la incapacidad de estos para contener la replicación del bacilo de tuberculosis predispone a la aglomeración de macrófagos, los cuales son rodeados de neutrófilos y es activada de inmediato la inmunidad adaptativa celular de

nodulos y ganglios que depende en gran parte de la actividad de Células T CD4+ y citocinas derivadas. La DM genera alteración en la función de CD4+ y otras subpoblaciones linfocitarias y citocinas asociadas lo cual es responsable de la reactivación de MTB de un estado latente a un estado activo(TB activa) en pacientes con DM (14).

La prueba PPD y Quantiferon TB GOLD (QFT-Plus) ayudan a evaluar de forma indirecta y cualitativa la inmunidad celular contra TB. QFT-Plus adicional es útil para el diagnóstico de TB latente (LTBI), lo cual ayuda a cumplir los objetivos de la OMS para evitar reactivación de TB al diagnosticar y tratar en estado LTBI.

Existen adicional otras pruebas como anticuerpos IgM e IgG contra MTB los cuales son cruciales en la respuesta inmune adaptativa, estos anticuerpos han mostrado gran utilidad en el diagnóstico de tuberculosis en pacientes con resultados de expectoración negativos, debido a que la positividad de IgM indica tuberculosis activa.

La participación del sistema inmune ante la presencia de TB activa es efectuada principalmente mediante células T CD4+. De forma más específica las células Th1, Th17 y Th2 CD4+ a través de citocinas IL-12, IFN- γ , TNF- α , IL-17 e IL-23, las cuales juegan un rol preponderante en la inducción y mantenimiento de la inmunidad protectora contra TB, siendo IFN- γ y TNF- α las de mayor importancia (14,15,16,19). Incluso estudios previos han observado que la re estimulación de la inmunidad en pacientes con DM y tuberculosis resulta en mayor producción de IFN- γ , IL-2, TNF- α y GM-CSF (19,22).

Otros estudios han encontrado una respuesta paradójica hiperinflamatoria sérica y disminuida a nivel local pulmonar. Con niveles séricos mayores de Th1, Th17, IFN- γ e IL-17, e hipercitocinemia por IL-2 y GM-CSF incluso con duplicación sérica de CD4+ Th1 (IFN- γ , TNF- α or IL-2), en pacientes con TB y DM. Sin embargo esto contrasta con los niveles obtenidos de lavado bronquioalveolar (LBA) de pacientes con DM y TB en la cual se identifica una reducción en los niveles de IFN- γ forma local en el árbol bronquial. Este comportamiento paradójico en el nivel de citocinas explica parcialmente por que la inmunosupresión en DM genera un aumento de la diseminación local pulmonar del bacilo de la tuberculosis y disminución de la presentación extrapulmonar de la misma (19,20,21,22).

Estas anormalidades inmunológicas en pacientes con TB y DM se han asociado a altos niveles de hemoglobina glicosilada y a alteraciones del perfil de lípidos, los cuales producen daño tisular, macrófagos espumosos y alteración en los transcriptomas productores de células Linfocitos T CD4 + y citocinas derivadas. (25,27).

Actualmente se conoce en gran medida la inmunosupresión generada en DM que predispone a mayor riesgo de tuberculosis activa, sin embargo hasta el momento existe poca información del comportamiento inmunológico y metabólico de cara o en respuesta al tratamiento antituberculosis, sobre todo una vez que se llega a la actividad máxima del tratamiento antituberculosis (culminación de fase Intensiva ó 2 meses post Tx), lo cual es el motivo de este estudio.

2.1 JUSTIFICACIÓN

Existe poca información respecto al comportamiento inmunológico celular y humoral en pacientes diabéticos con TB activa en respuesta al tratamiento antituberculosis sobre todo al finalizar los primeros dos meses de fase intensiva. Adicional existe poca información comparativa entre grupos de TB activa sin DM vs con DM.

Esto es de suma importancia debido a la inmunodisregulación que existen en pacientes con DM en la actividad de linfocitos T CD4+, los cuales son indispensables en la protección inmunológica contra TB activa.

CAPÍTULO III

3.HIPÓTESIS

Hipótesis alterna. La inmuno-disregulación observada al momento del diagnóstico de tuberculosis no se recupera como efecto del tratamiento antituberculosis en pacientes diabéticos.

Hipótesis nula. La inmuno-disregulación observada al momento del diagnóstico de tuberculosis se recupera como efecto del tratamiento antituberculosis en pacientes diabéticos.

CAPÍTULO IV

4.OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar alteraciones en la inmunidad celular y humoral así como su cambio en respuesta al tratamiento anti-TB en pacientes diabéticos con tuberculosis.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el perfil de lípidos y Hb1ac en los grupos de estudio.
2. Analizar la respuesta de anticuerpos IgM e IgG anti-proteínas del extracto celular de MTB entre los distintos grupos.
3. Evaluar la respuesta inmune celular mediante pruebas de hipersensibilidad retardada (PPD) y Quantiferon TB GOLD en los grupos de estudio.
4. Estudiar las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ entre los grupos de estudio.

CAPÍTULO V

5.MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Diseño.

Se realizó un estudio prospectivo observacional, comparativo, aprobado por nuestro Comité de investigación NM18-00007 acorde a los lineamientos Internacionales de buenas practicas clínicas y en cumplimiento con la reglamentación local.

5.2 Metodología del estudio

Se efectuó un estudio observacional comparativo de octubre 2018 a septiembre 2022 en el centro de referencia de tuberculosis de Monterrey Nuevo León, México (CIPTIR) del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" Incluimos 4 grupos de participantes: 1)Sujetos sanos, 2) Pacientes con solo DM, 3)Pacientes con solo TB, y 4) Pacientes con la combinación TB-DM. Se efectuó medición de parámetros bioquímicos(Glucosa, urea, creatinina, transaminasas, Hb1ac, perfil de lipidos), parametros antropométricos e inmunidad celular/humoral basal y una segunda medición se realizó a los 2 meses solo en los grupos de TB activa(TB-DM y solo TB). Los criterios de inclusión fueron: adultos > 18 años de cualquier genero con diagnóstico reciente de TB sin tratamiento activo con y sin DM. Se excluyeron pacientes con inmunosupresión por VIH, cancer en tratamiento,

enfermedades reumatológicas, hematológicas, uso de inmunosupresores, uso de esteroides, co-infección bacteriana o micótica, embarazo, lactancia y TB MDR y XDR.

Dentro de las definiciones operacionales TB activa se consideró cuando: Se Identificaron Bacilos ácido alcohol resistentes en la tinción de Ziehl-Neelsen de expectoración ó lavado bronquioalveolar, cultivo positivo para micobacterias ó detección de micobacterias por PCR. DM fue definido acorde a los criterios de la Sociedad Americana de Diabetes (AHA) (17).

5.2.1 Subpoblaciones de Linfocitos

Se evaluaron las subpoblaciones de linfocitos en sangre total periférica en los 4 grupos de pacientes mediante citometría de flujo BD Multitest™ CD3/CD8/CD45/CD4, Becton Dickinson, USA and BD Trucount™ Tubes, Becton Dickinson, USA. Las muestras fueron incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente, los eritrocitos fueron lisados usando el protocolo LNW. Después de la tinción, 2500 linfocitos se adquirieron y procesaron con FACS Canto II flow cytometer, Becton Dickinson, San José California, USA y posteriormente se analizaron mediante FACS Canto software version 3.0, Becton Dickinson, San José, CA, USA.

5.2.2 Inmunidad Celular

Se evaluó inmunidad celular con extracto proteico purificado (PPD) subcutáneo y Quantiferon TB GOLD Plus(QFT-Plus) sérico al momento de la inclusión a los 4 grupos de pacientes .

5.2.3 Anticuerpos Anti TB

Los anticuerpos anti TB se determinaron mediante el "Proceso de detección de tuberculosis" patente No. 285260 desarrollada por el departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina UANL (Arce-Mendoza y Rosas-Taraco, 2011). En primer lugar, se colocó 1 µg/pocillo del antígeno diluido en tampón acetato de pH 7,2–7,4 en placas de 96 pocillos. Las placas se incubaron durante la noche a 4°C; luego, se descartaron los sobrenadantes y las placas se bloquearon con 200 µL de leche descremada diluida al 5% en tampón de fosfato. Se utilizaron sueros de controles y pacientes para evaluar los niveles de anticuerpos contra la proteína MTB [18]. Las muestras se diluyeron a 1:50 en leche desnatada al 1 %. Los anticuerpos IgM anti-humano conjugados con peroxidasa y los anticuerpos IgG se diluyeron a 1:10.000. Las placas se leyeron en un espectrofotómetro iMark™ (Bio-Rad, Tokio, Japón) a $\lambda = 490$ nm.

5.3. Analisis Estadístico

Los datos se analizaron utilizando el software SPSS v.20.0 y Graphpad prism. Estadística descriptiva se uso para describir variables demográficas. Utilizamos test de Chi-cuadrada para variables categoricas y ANOVA con comparación múltiple de Tukey ó Kruskal-Wallis con comparación múltiple de Dunn para variables cuantitativas entre los diferentes grupos de acuerdo a su distribución. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

CAPÍTULO VI

6.RESULTADOS

6.1 Datos demográficos y perfil metabólico

Se incluyeron un total de 62 pacientes divididos en 4 grupos; Pacientes con Tuberculosis + diabetes (TB + DM) Tuberculosis sin DM(TB), DM sin tuberculosis(DM) y controles sanos. La edad en el grupo de pacientes con TB fue de 27 años (18-84años) vs TB + DM 46 años (22-71) $P < 0.001$. El grupo de TB + DM tenía una Hb1ac de 10.77 (\pm DE 2.66) vs DM sin TB 8.17 (\pm DE 2.2) $P < 0.001$. (Ver tabla 1). Los niveles séricos de Colesterol HDL fueron de 32 mg/dL (\pm 10.9 DE) en TB-DM basal vs 49.8 mg/dL (\pm 11.8 DE) en TB-DM post tratamiento anti-TB, with $p < 0.05$. Los niveles séricos de Colesterol total basal fueron de 180 mg/dL(\pm 15.3 DE) en TB-DM vs 206 mg/dL(\pm 46.2 DE) en solo DM, $P < 0.01$. Los triglicéridos basales fueron de 284.5 mg/dL(\pm 259.1 DE) en solo DM vs 106.6 mg/dL (\pm 55.6 SD) en solo TB con $P < 0.01$ (ver figura 1).

6.2 Inmunidad Celular basal PPD y Quantiferon TB GOLD

PPD fue positivo en 15 pacientes con TB + DM (100%), 16 de 17 pacientes con TB sin DM (94.1%), 0 de 15 pacientes con DM (0%), 4 de 15 controles sanos (26.7%). El Quantiferon TB GOLD resultó positivo en 14 de 15 pacientes TB+DM (93.3%), 14 de 17 pacientes TB (82.4%), 6 de 15 pacientes con DM (40%), 6 de 15 controles (40%). Una correlación significativa y gran concordancia se encontró entre PPD y Quantiferon TB

GOLD en todos los grupos (kappa 0.8) excepto en el grupo de DM sin TB activa (Kappa 0.4) $p < 0.001$. (ver tabla 1).

Tabla 1. Datos demográficos e Inmunidad celular basal*.

Variabes	TB-DM (n = 15)	Solo TB (n = 17)	Sujetos sanos (n = 15)	Solo DM (n = 15)
Sexo	-	-	-	-
Femenino, n (%)	4 (26.7)	5 (29.4)	8 (53.3)	6 (40)
Masculino, n (%)	11 (73.3)	12 (70.6)	7 (46.7)	9 (60)
Edad, mediana (rango)	46 (22–71)	27 (18–84)	36 (21–70)	57 (47–75)
IMC, mediana (rango)	17.2 (14.6– 19.5)	15.88 (13–22)	18.3 (12–23)	17.2 (14.8–22.3)
Positivo PPD, n (%)	15 (100%)	16 (94.1%)	4 (26.7%)	0 (0%)
QFT–Plus	-	-	-	-
Positivo, n (%)	14 (93.3%)	14 (82.4%)	6 (40%)	6 (40%)
Negativo, n (%)	0 (0%)	2 (11.8%)	9 (60%)	6 (40%)
Indeterminado, n (%)	1 (6.7%)	1 (5.9%)	0 (0%)	2 (20%)

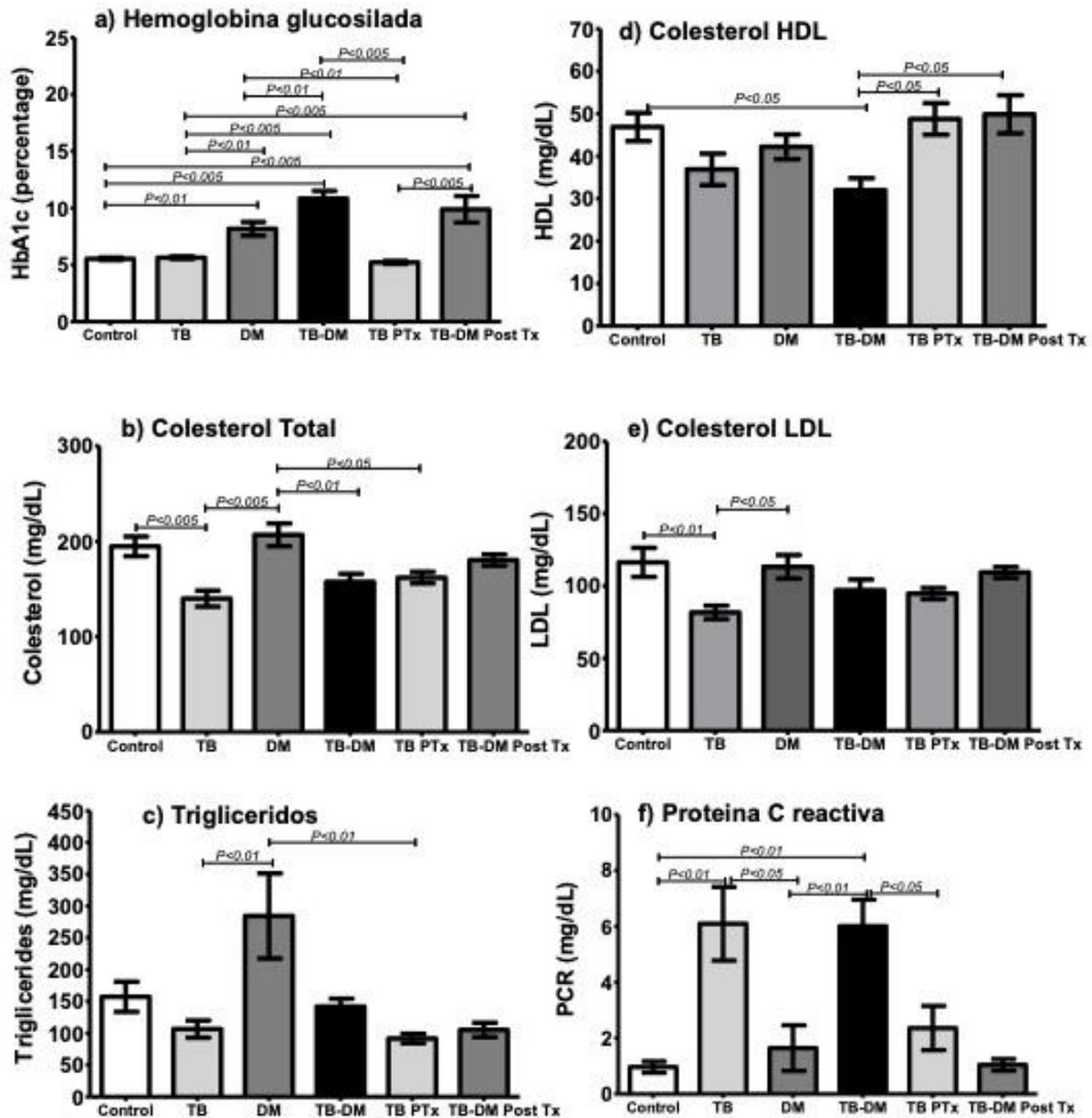


Figura 1: Perfil metabólico y proteína C reactiva medición basal entre los 4 grupos de pacientes (controles, DM, Tb, Tb + DM) y 2 grupos post tratamiento antituberculosis. Comparaciones realizadas con ANOVA y Tukey's en HbA1c, HDL, LDL, Colesterol total. Comparaciones realizadas con Kruskal wallis y Dunn's en triglicéridos y proteína C reactiva; valores expresados como media y desviación standard.

6.3 Subpoblaciones linfocitarias CD4+/CD8+ basal y post tratamiento anti TB

En el análisis comparativo basal entre grupos, el valor absoluto de linfocitos T CD4+ fue 1,353 (± 377) células/ μl en solo DM vs 956 (± 288.3) células/ μl en sujetos sanos, $p < 0.01$, vs 501.7 (± 216.4) células/ μl en solo TB activa, $p < 0.005$ y 668 (± 178.2) células/ μl en TB-DM, $p < 0.01$ (ver figura 2). Los resultados a los 2 meses de tratamiento antituberculosis (fase Intensiva) fue el siguiente: Valor absoluto linfocitos T CD4 + 668 (± 178.2) células/ μl en el grupo TB-DM post Tratamiento (Post Tx) vs 1,353 (± 377) células/ μl en solo DM vs 501.7 (± 216.4) en solo TB activa, $p < 0.005$ vs 956 (± 288.3) células/ μl en sujetos sanos, $p < 0.005$. (ver figura 2). También identificamos diferencias estadísticamente significativas en el valor absoluto de células T CD8 + entre el grupo de DM sin TB activa, 678 (± 299.4) células/ μl vs TB activa sin diabetes 343 (± 232.2) células/ μl , $p < 0.001$ (figura 2).

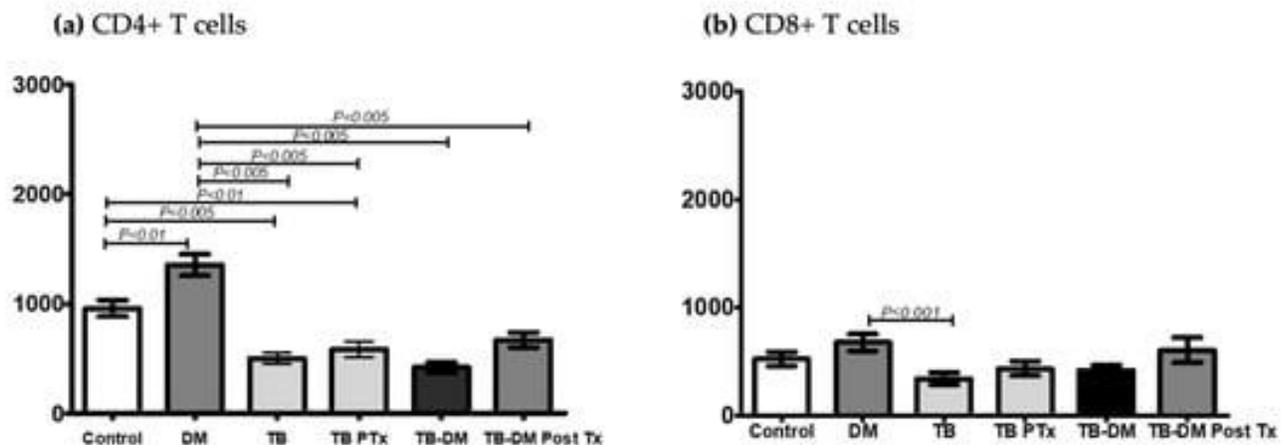


Figura 2. Plots muestras el conteo absoluto CD4+ y CD8+ en sujetos sanos (n=15) y grupos de pacientes: solo DM (n=15), TB (n=17), TB post TX (n=12), TB-DM (n=15), y TB-DM Post Tx (n=7) (a) Linfocitos T CD4+ absolutos, (b) Linfocitos T CD8+ absolutos.

6.4 Evaluación Anticuerpos antituberculosis IgM e IgG

Se encontro anormalidad estadísticamente significativa en los niveles de anticuerpos IgM anti-TB valor basal de $0.47(\pm 0.20)$ en el grupo de solo DM vs $0.72(\pm 0.27)$ en el grupo de solo TB $p < 0.05$. Adicional a los 2 meses post tratamiento antituberculosis persistieron los niveles séricos elevados en el grupo de solo TB $0.77(\pm 0.20)$, $p < 0.01$. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de IgG anti-TB, ver figura 3.

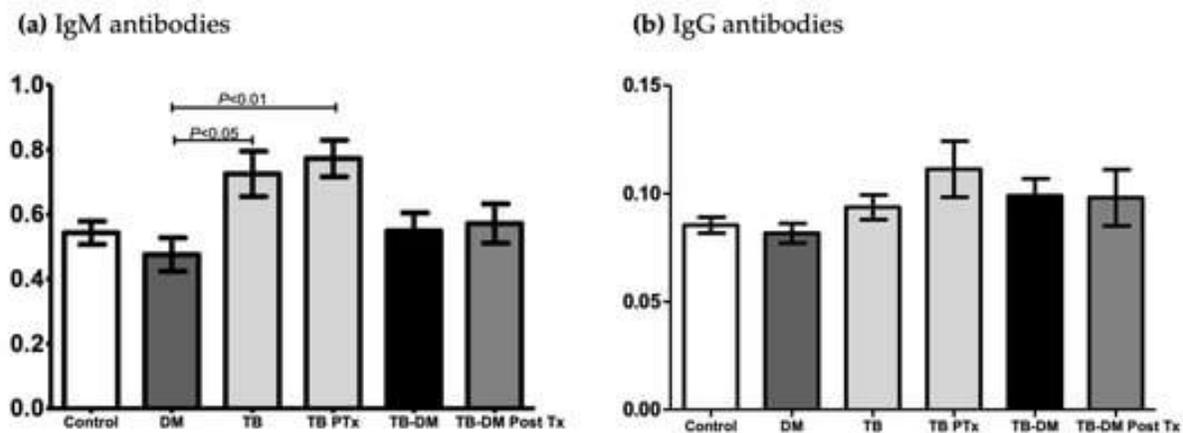


Figure 3. Las gráficas muestran los niveles de anticuerpos antituberculosis en sujetos sanos ($n=15$) y grupos de pacientes: solo DM ($n=15$), TB ($n=17$), TB post TX ($n=12$), TB-DM ($n=15$), y TB-DM Post Tx ($n=7$) (a) IgM anti-TB (Absorbancia de 490 nm) se analizó con ANOVA y comparación múltiple de Tukey's. (b) IgG anti-TB (absorbancia de 490 nm) se analizó con Kruskal-Wallis y comparación múltiple de Dunn's. Los valores se expresaron como mediana con \pm DE.

CAPÍTULO VII

7.- DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó el comportamiento inmunológico celular y humoral en paciente con TB-DM vs solo TB, solo DM y controles sanos, identificando diferencias significativas tanto en el patrón de inmunidad celular y humoral, los cuales persistían posterior a 2 meses de tratamiento antituberculosis principalmente en el grupo de TB-DM. Adicional se encontro alteración en la inmunidad celular basal evaluada con PPD y Quantiferon solo en el grupo de DM.

Las células T CD4+ juegan un rol crucial en la inmunidad adaptativa contra tuberculosis, nosotros identificamos valores absolutos de celulas T CD4 + disminuidas en el grupo de TB-DM comparado con los otros 3 grupos (solo TB, controles, solo DM) y estos valores absolutos de celulas T CD4+ no se recuperaron posterior a dos meses de tratamiento anti-TB (fase Intensiva). Esto va acorde a otros estudios que muestran un rol preponderante de la actividad de linfocitos T CD4 + tanto en la inducción como en el mantenimiento de la inmunidad contra TB por medio de la producción de IFN- γ , TNF- α y otras citocinas. La DM se ha asociado con la disminución de valores absolutos y de la actividad de linfocitos T CD4 +, similar a los hallazgos de nuestro estudio. Adicionalmente se compararon los valores absolutos de linfocitos T CD4+ encontrados en nuestro estudio con controles sanos históricos de otros estudios e identificamos niveles de T CD4+ mucho mas bajos en nuestros pacientes con TB activa (Solo TB y TB+DM) en

relación a dichos controles. Por último al comparar los niveles basales de linfocitos T CD4+ pre y post en TB-DM no hubo diferencia significativa, pero persistían en niveles muy bajos comparados con pacientes sin DM y controles históricos, lo cual va acorde a una inmunodisregulación persistente pese a tratamiento antituberculosis fase Intensiva. (19,20,21,22).

Respecto a linfocitos T CD8+, en nuestro estudio identificamos niveles de celularidad absoluta más altos en el grupo de pacientes con solo DM, comparada con TB activa sin DM, lo cual puede ser explicado por la alta prevalencia de tuberculosis latente en pacientes con DM, lo cual es similar a otros estudios que han identificado un aumento de la expresión de antígenos específicos CD8 + en pacientes con LTBI comparado con TB activa (22).

Por otro lado los anti -TB en nuestro estudio tenían niveles persistentemente elevados de IgM anti-TB, tanto basales como al término de tratamiento antituberculosis (2 meses fase Intensiva) de forma estadísticamente significativa, lo cual se asocia a TB activa, sin embargo esa falta de disminución sérica a los 2 meses post tratamiento puede ser explicada por un descenso lento y probable a los 3 o 4 meses se encontraría normal, lamentablemente esta medición no se efectuó en nuestro estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de IgG anti-TB (23).

Finalmente, en la evaluación de inmunidad celular con PPD y Quantiferon TB GOLD de nuestro estudio se encontró buena concordancia entre ambos estudios en TB activa (Solo TB y TB-DM) mientras que en pacientes con solo DM el PPD fue positivo en el 0% de los casos, sin embargo al utilizar Quantiferón TB GOLD el 40% exhibía un resultado positivo (TB latente), lo cual refleja anergia por inmunoparesia celular al utilizar PPD, sin embargo con el uso de Quantiferón se logra evaluar mejor la inmunidad celular y establecer el diagnóstico de TB latente, esto acorde a las recomendaciones de la OMS 2022 (4).

Existen varias hipótesis que explican los resultados de la alteración predominante de inmunidad celular encontrados en nuestro estudio y que van acorde a otros resultados publicados con anterioridad en población con la sindemia TB-DM, uno de ellos encontró asociación entre los niveles séricos elevados de Hemoglobina glicosilada en pacientes diabéticos con alteración en los transcriptomas que producen deterioro de la inmunidad celular tipo I y como consecuencia valores absolutos y porcentaje bajo de linfocitos T CD4+ y de las Interleucinas que producen estos linfocitos T CD4+ como $TNF\alpha$ e $IFN-\gamma$; otros estudios han encontrado baja expresión de celularidad Linfocitos T CD4+ y bajos niveles sericos de IL-10 en pacientes con TB-DM, los cuales se asociaron tambien con niveles séricos mayores de hemoglobina glicosilada y dicha alteración en la inmunidad persistio 2 meses post tratamiento antituberculosis. Hipertrigliceridemia y bajos niveles de colesterol HDL se han asociado a macrófagos espumosos y daño tisular en pacientes con TB-DM, sin embargo en nuestro estudio no identificamos alteración en los triglicéridos, pero encontramos bajos niveles de colesterol HDL, los cuales se recuperan

a valores normales posterior a tratamiento anti-TB en el grupo de pacientes TB-DM, similar a lo reportado en otros estudios (25,27).

Las limitaciones de nuestro estudio son muestra pequeña y pérdida de pacientes en el seguimiento. Es un estudio unicéntrico. No evaluamos fagocitosis, otras subpoblaciones linfocitarias, otras citocinas y el comportamiento inmunológico acorde al tratamiento anti DM que recibía el paciente. Otras alteraciones de la función inmune en pacientes con hemoglobina glicosilada elevada son: activación de monocitos, presentación de antígenos y fagocitosis, los cuales desafortunadamente no evaluamos. Otra limitación de nuestro estudio es la falta de seguimiento a los 6-9 meses post tratamiento anti-TB, lo cual abre la puerta para nuevos estudios.

CAPITULO VIII

8.- CONCLUSIONES

Existe una alteración de la inmunidad adaptativa de células T CD4+ en pacientes con TB-DM la cual no se corrige después de 2 meses de tratamiento antituberculosis. Necesitamos más estudios para confirmar estos hallazgos.

CAPITULO IX.

9.- BIBLIOGRAFÍA.

- [1] A. Ponce-de-Leon *et al.*, "Tuberculosis and Diabetes in Southern Mexico," *Diabetes Care*, vol. 27, no. 7, pp. 1584–1590, Jul. 2004, doi: 10.2337/diacare.27.7.1584.
- [2] S. Kant, H. Lata, S. M. Natu, A. K. Mishra, and N. S. Verma, "Diabetes mellitus with pulmonary tuberculosis--a double trouble," *J Indian Med Assoc*, vol. 111, no. 3, pp. 187–191, 2013, [Online]. Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/24592761>
- [3] International Diabetes Federation, "IDF Diabetes Atlas, 10th edition," Brussels, Belgium, 2021. [Online]. Available: www.diabetesatlas.org
- [4] Geneva: World Health Organization, "Global Tuberculosis Report 2022," 2022. [Online]. Available: <http://apps.who.int/bookorders>.
- [5] I. C. V. D. de E. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, "Curso Virtual Internacional, Tópicos Selectos de Tuberculosis, 'La Epidemia Olvidada,'" Mar. 23, 2023. <https://www.youtube.com/live/PMkGx9fTEyI?feature=share> (accessed Apr. 27, 2023).
- [6] V. Antonio-Arques, J. Franch-Nadal, and J. A. Caylà, "Diabetes and tuberculosis: A syndemic complicated by COVID-19," *Medicina Clínica (English Edition)*, vol. 157, no. 6, pp. 288–293, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.medcle.2021.04.006.

- [7] B. Alisjahbana *et al.*, “The Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on the Presentation and Treatment Response of Pulmonary Tuberculosis,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 45, no. 4, pp. 428–435, Aug. 2007, doi: 10.1086/519841.
- [8] N. Martinez and H. Kornfeld, “Diabetes and immunity to tuberculosis,” *Eur J Immunol*, vol. 44, no. 3, pp. 617–626, Mar. 2014, doi: <https://doi.org/10.1002/eji.201344301>.
- [9] V. Viswanathan *et al.*, “Prevalence of Diabetes and Pre-Diabetes and Associated Risk Factors among Tuberculosis Patients in India,” *PLoS One*, vol. 7, no. 7, pp. e41367-, Jul. 2012, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041367>
- [10] B. E. Abdelbary, M. Garcia-Viveros, H. Ramirez-Oropesa, M. H. Rahbar, and B. I. Restrepo, “Tuberculosis-diabetes epidemiology in the border and non-border regions of Tamaulipas, Mexico,” *Tuberculosis*, vol. 101, pp. S124–S134, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tube.2016.09.024>.
- [11] N. P. Kumar, K. Moideen, P. J. George, C. Dolla, P. Kumaran, and S. Babu, “Coincident diabetes mellitus modulates Th1-, Th2-, and Th17-cell responses in latent tuberculosis in an IL-10- and TGF- β -dependent manner,” *Eur J Immunol*, vol. 46, no. 2, pp. 390–399, Feb. 2016, doi: <https://doi.org/10.1002/eji.201545973>.
- [12] A. D. Harries *et al.*, “The looming epidemic of diabetes-associated tuberculosis: Learning lessons from HIV-associated tuberculosis,” *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, vol. 15, no. 11. pp. 1436–1444, Nov. 2011. doi: 10.5588/ijtld.11.0503.

- [13] B. I. Restrepo and L. S. Schlesinger, "Impact of diabetes on the natural history of tuberculosis," *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 106, no. 2. Elsevier Ireland Ltd, pp. 191–199, Nov. 01, 2014. doi: 10.1016/j.diabres.2014.06.011.
- [14] N. P. Kumar *et al.*, "Type 2 Diabetes Mellitus Coincident with Pulmonary Tuberculosis Is Associated with Heightened Systemic Type 1, Type 17, and Other Proinflammatory Cytokines," *Ann Am Thorac Soc*, vol. 10, no. 5, pp. 441–449, Aug. 2013, doi: 10.1513/AnnalsATS.201305-112OC.
- [15] H. Priyanto, E. Chua, P. Hutchinson, J. Nugraha, and M. Amin, "A decrease in PPD specific CD4 T cell CD38 and HLA-DR expression in pulmonary tuberculosis patients after 8 weeks of therapy correlates with successful anti-tuberculosis treatment," *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*, vol. 22, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.jctube.2021.100214.
- [16] R. Wei, P. Li, Y. Xue, Y. Liu, W. Gong, and W. Zhao, "Impact of Diabetes Mellitus on the Immunity of Tuberculosis Patients: A Retrospective, Cross-Sectional Study," *Risk Manag Healthc Policy*, vol. 15, pp. 611–627, 2022, doi: 10.2147/RMHP.S354377.
- [17] American Diabetes Association, "Standards of Medical Care in Diabetes—2022. Abridged for Primary Care Providers," *Clinical Diabetes*, vol. 40, no. 1, pp. 10–38, Jan. 2022, doi: 10.2337/cd22-as01.
- [18] A. Y. Arce-Mendoza *et al.*, "Efficacy of ELISA test in diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection," *Microbiology Research International*, vol. 6, no. 4, pp. 54–60, Nov. 2018, doi: 10.30918/MRI.64.18.022.
- [19] N. P. Kumar, K. Moideen, P. J. George, C. Dolla, P. Kumaran, and S. Babu, "Coincident diabetes mellitus modulates Th1-, Th2-, and Th17-cell responses in latent tuberculosis

in an IL-10-and TGF- β -dependent manner,” *Eur J Immunol*, vol. 46, no. 2, pp. 390–399, 2016.

- [20] A. D. Harries *et al.*, “The looming epidemic of diabetes-associated tuberculosis: learning lessons from HIV-associated tuberculosis.,” *Int J Tuberc Lung Dis*, vol. 15, no. 11, pp. 1436–44, i, Sep. 2011, [Online]. Available: https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/21902876/The_looming_epidemic_of_diabetes_associated_tuberculosis:_learning_lessons_from_HIV_associated_tuberculosis_
- [21] M. Moreno-Galván and A. Palafox, “CD4+ CD8+ T cell reference values in the Mexico City population,” *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 20, no. 2, pp. 306–308, Feb. 2013, doi: 10.1128/CVI.00523-12.
- [22] A. Harari *et al.*, “Dominant TNF- α Mycobacterium Tuberculosis-specific CD4 T-cell responses discriminate between latent infection and active disease (99.10),” *The Journal of Immunology*, vol. 186, no. 1_Supplement, pp. 99.10-99.10, Apr. 2011, doi: 10.4049/jimmunol.186.Supp.99.10.
- [23] W. Ben-Selma, H. Harizi, and J. Boukadida, “Immunochromatographic IgG/IgM test for rapid diagnosis of active tuberculosis,” *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 18, no. 12, pp. 2090–2094, Dec. 2011, doi: 10.1128/CVI.05166-11.
- [24] C. Eckold *et al.*, “Impact of Intermediate Hyperglycemia and Diabetes on Immune Dysfunction in Tuberculosis,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 72, no. 1, pp. 69–78, Jan. 2021, doi: 10.1093/cid/ciaa751.

- [25] A. Mily *et al.*, "Slow radiological improvement and persistent low-grade inflammation after chemotherapy in tuberculosis patients with type 2 diabetes," *BMC Infect Dis*, vol. 20, no. 1, p. 933, 2020, doi: 10.1186/s12879-020-05473-x.
- [26] C. A. Segura-Cerda, W. López-Romero, and M. A. Flores-Valdez, "Changes in Host Response to Mycobacterium tuberculosis Infection Associated With Type 2 Diabetes: Beyond Hyperglycemia," *Front Cell Infect Microbiol*, vol. 9, 2019, [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2019.00342>
- [27] J. Mukisa *et al.*, "Male gender and duration of anti-tuberculosis treatment are associated with hypocholesterolemia in adult pulmonary tuberculosis patients in Kampala, Uganda," *Afr Health Sci*, vol. 18, p. 479, Aug. 2018, doi: 10.4314/ahs.v18i3.3.

CAPÍTULO X

10. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.

Soy Erick Joel Rendón Ramírez, originario de Mexicali Baja California, hijo de María Laura Ramírez Beltrán y Claudio Rendón Salcido, tengo 9 hermanos y mentores de vida donde ocupo el 9no lugar, ellos me enseñaron a trabajar desde muy pequeño en carpintería, pintura, soldadura y ventas en nuestro negocio familiar, en el cual se solicitaba mi apoyo en los horarios no escolares desde la secundaria hasta mi carrera Universitaria, esta última la realicé en la Facultad de Medicina de Méxicali Baja California UABC, obteniendo mención honorífica; posteriormente me incursione en Medicina Interna del hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" HU UANL del 2009-2013 ocupando el puesto de Jefe de Residentes y obteniendo el nombramiento de estudiante distinguido de posgrado, al termino de mi primer especialidad me sume a las filas de Neumología y Medicina Crítica del 2013-2016 fungiendo como Jefe de Residentes y obteniendo el nombramiento de estudiante distinguido de posgrado, así como el 1er lugar en el exámen de consejo nacional de Neumología, tuve oportunidad de realizar una estancia formativa en la Unidad de Pleura de Lleida España con el Dr Porcel, obteniendo reconocimiento a la excelencia el 2016. Al terminar mis estudios académicos el 2016 me incorpore como profesor de Medicina Interna, Neumología y Medicina Crítica obteniendo el reconocimiento de profesor distinguido de Medicina Interna por 7 años consecutivos y ser nombrado en 2 ocasiones padrino de Generación de la Facultad de Medicina 2020 y 2021, durante este lapso de tiempo logramos incursionar en la investigación clínica y publicamos > 20 artículos científicos en revistas de alto impacto. Adicional ocupe los

cargos de Presidente de la Sociedad de Neumología de Monterrey 2019-2021, Secretario de la Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax 2019-2021. Por Ultimo mi mayor reconocimiento fue convertirme en esposo de la mujer más brillante y maravillosa de este planeta, la cual tiene mi más alta admiración (Dra. Perla Colunga) y poder formar con ella una familia que incluye a 2 pequeños (Anabella y Erick) que me permiten aprender día a día y crecer en todos los sentidos, siempre de la mano de DIOS.