



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE CARDIOLOGIA CMN SIGLO XXI

SUBSEDE UMAE HG "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

"FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO GENÉTICO  
DE LA INTERLEUCINA 10 EN PACIENTES CON  
TUBERCULOSIS PULMONAR CURADA Y NO CURADA"

TESIS DE POSGRADO

Que Para Obtener El Título De  
Medico Especialista En:

PATOLOGÍA CLÍNICA

Presenta:

**DRA. LEILA VERA RAMÍREZ**

Asesora:

Dra. Guadalupe De Los Ángeles García Elorriaga



México, D. F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## *Hoja De Firmas*

---

---

Dr. Rubén Arguero Sánchez  
Director de la UMAE Hospital de  
Cardiología CMN SXXI, IMSS

---

Dr. Armando Mansilla Olivares  
Director de la División de Educación  
Medica e Investigación, UMAE  
Hospital de Cardiología CMN SXX,  
IMSS

---

Dra. Rosa María García Escamilla  
Profesora Titular del Curso de  
Postgrado en Patología Clínica,  
UMAE HC CMN SXX,  
IMSS/UNAM

---

Dra. Guadalupe de Los Ángeles  
García Elorriaga  
Asesora de Tesis e Investigador  
asociado de la Unidad de  
Investigación Biomédica en  
Inmunología, CMNR, IMSS

- **INVESTIGADOR PRINCIPAL:**

Doctora en Ciencias Guadalupe De Los Ángeles García Elorriaga  
(Tutor).

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MEDICA EN INMUNOLOGÍA E  
INFECTOLOGÍA. HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA “DR. DANIEL MÉNDEZ  
HERNÁNDEZ”, CENTRO MEDICO NACIONAL “LA RAZA”.  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. MÉXICO, D.F.

- **INVESTIGADOR ASOCIADO:**

Dr. Cesar Raúl González Bonilla (Tutor).

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MEDICA EN INMUNOLOGÍA E  
INFECTOLOGÍA. HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA “DR. DANIEL MÉNDEZ  
HERNÁNDEZ”, CENTRO MEDICO NACIONAL “LA RAZA”  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL. MÉXICO, D.F.

## *Colaboradores*

---

**Dr. Francisco Cruz Olivo**

Medico Especialista en Medicina Interna Pediatrica  
UMAE HG “Dr. Gaudencio Gonzalez Garza”, CMN “La Raza”.

**Dra. Clara Gorodezky Lauferman**

Directora Departamento de Inmunogenética  
Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica.

**Dr. Miguel Betancourt Cravioto**

Dirección General de Epidemiología.

**M en C. Melisa Ángela Martínez Paniagua**

Departamento de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología  
Hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez”, CMN “La Raza”.

**QFB. Bernardo Martínez Miguel**

Departamento de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología  
Hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez”, CMN “La Raza”.

# *Dedicatoria y Agradecimientos*

---

Primeramente, a Dios por ser mi mejor Amigo, mi Luz y mi Fortaleza; por la presencia de Su Amor en mi vida.

A mi mama y hermano:

Por la aceptación incondicional y el apoyo mutuo que hemos conquistado.

Por ser y estar, por compartir el espacio y los momentos significativos.

A mis distinguidos asesores y maestros:

Modelos de Valor y Sabiduría. Por su desinteresada y generosa labor de transmisión del conocimiento. Por su luz y su inagotable entusiasmo.

A mis colegas, compañeros y amigos:

Por su ejemplo, dedicación y cariño que me ha iluminado en esta parte del sendero que nos ha tocado compartir.

A los pacientes:

Por la fortaleza y paciencia que demuestran día a día al enfrentar el dolor y la enfermedad.

A aquellas personas que son como ventanas de aire fresco en mi vida.

Y por supuesto, a Ti, por ayudarme a construir el puente de la Espiritualidad entre el corazón y la cabeza. Y sobre todo, por hacer del ágape, una premisa en mi respirar.

A todos Ustedes, ¡Que Dios los Bendiga!

Leila Vera Ramírez

Fil. 4:13

Octubre 2006

<b>1. Resumen</b> .....	7
<b>2. Abstract</b> .....	8
• <b>Titulo</b> .....	9
<b>3. Antecedentes</b> .....	10
3.1. Interleucina 10.....	15
3. 2. Polimorfismos de Interleucina 10.....	17
3. 3. Interleucina 10 y Tuberculosis.....	18
<b>4. Justificación</b> .....	20
<b>5. Pregunta de Investigación</b> .....	21
<b>6. Hipótesis</b> .....	22
<b>7. Objetivo</b> .....	23
7. 1. Objetivo General.....	23
7. 2. Objetivos Específicos.....	23
<b>8. Material y Métodos</b> .....	24
8. 1. Diseño del estudio.....	24
8. 2. Población de estudio.....	24
8. 3. Pacientes y Sujetos de estudio.....	24
8. 4. Ubicación temporal.....	24
8. 5. Criterios de Selección.....	25
8. 5. 1. Criterios de inclusión.....	25
8. 5. 2. Criterios de no selección.....	25
8. 5. 3. Criterios de exclusión.....	25
8. 6. Variables de estudio.....	25
8. 6. 1. Variable independiente.....	25
8. 6. 1. a. Polimorfismo (-1082) del gen de la IL10..	25
8. 6. 1. b. Polimorfismo (-819) del gen de la IL10....	26
8. 6. 1. c. Polimorfismo (-519) del gen de la IL10....	26
8. 6. 2. Variables dependientes.....	27

8. 6. 2. a. Tuberculosis Pulmonar Curada.....	27
8. 6. 2. b. Tuberculosis Pulmonar No Curada.....	27
8. 6. 2. c. Tuberculosis Pulmonar no Curada y Diabetes Mellitus 2.....	28
8. 6. 2. d. Sujetos sanos PPD+.....	29
8. 6. 2. e. Sujetos sanos donadores de sangre.....	29
8. 7. Recolección de datos.....	30
8. 8. Descripción del estudio.....	31
8. 8. 1. Obtención de las células sanguíneas por Mgcl <sub>2</sub> .....	32
8. 8. 2. Extracción del DNA.....	32
8. 8. 3. Metodología para realizar PCR en Tiempo Real.....	33
8. 8. 4. Control de Calidad.....	34
8. 9. Consideraciones Éticas.....	35
8. 10. Análisis Estadístico.....	36
8. 10. 1. Calculo del tamaño de la muestra.....	36
8. 10. 2. Calculo de las frecuencias alelicas en la población y frecuencias génicas.....	36
<b>9. Resultados.....</b>	<b>38</b>
<b>10. Discusión.....</b>	<b>45</b>
<b>11. Conclusión.....</b>	<b>48</b>
<b>12. Bibliografía.....</b>	<b>49</b>
<b>13. Anexo 1.</b> Carta de Consentimiento Informado.....	<b>54</b>
<b>14. Anexo 2.</b> Hoja de Recolección de Datos.....	<b>56</b>

## “Frecuencia del Polimorfismo Genético de la Interleucina 10 en Pacientes con Tuberculosis Pulmonar Curada y No Curada”

Vera R, García E, et. al. UMAE HG “Dr. Gaudencio González Garza”. Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología. Hospital de Infectología. Centro Medico Nacional la Raza, IMSS, México.

**Antecedentes:** La Tuberculosis es considerada la principal causa de muerte ocasionada por una sola bacteria en el mundo, *Mycobacterium tuberculosis*. Muchos genes codifican para diferentes citocinas que pueden afectar la susceptibilidad del hospedero a tuberculosis. Este estudio se enfoca al estudio de la Interleucina 10 (IL-10), la cual es una citocina cuya principal función es modular la respuesta inmune. Los SNP's que codifican para la IL-10 han sido asociados con fuertes infecciones. Hasta el momento poco se conoce acerca de la frecuencia de los SNP's de la IL-10 (-1082, -819, -592, -127, +41) asociados con la eliminación o susceptibilidad a la infección de TB.

**Objetivo:** Determinar los polimorfismos de los pacientes con tuberculosis pulmonar curada y no curada, con DM2 y sujetos sanos del gen de la Interleucina 10 (-1082, -819, -592) mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; así como la asociación de cada uno de los genes polimórficos de IL-10 en la evolución de la tuberculosis pulmonar.

**Material y Métodos:** Tipo de estudio: Transversal Analítico. Este estudio se llevo a cabo de marzo de 2005 a mayo de 2006, en la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología, del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”, Se estudiaron 37 pacientes adultos del grupo con TB curada y 40 pacientes adultos con TB no curada, tomando en cuenta la población de todas las edades y de cualquier sexo con TBP pareados por edad y sexo con 21 pacientes con TB no curada y DM2, 47 donadores de Banco de Sangre del CMNR y 13 trabajadores de la Salud sanos con PPD positivo. La determinación de polimorfismos de la IL10 se realizó con el equipo Applied Biosystems 7300/7500. La frecuencia en la población (FP) representa el porcentaje de individuos portadores de un alelo total de individuos estudiados y la frecuencia génica (FG) es la frecuencia del gen en la población. Se aplicó la fórmula de Haldane y el equilibrio de Hardy Wienberg en la población en cuestión. La comparación de las frecuencias se efectuó utilizando la prueba de Chi cuadrada con la corrección de Yates.

**Resultados:** La frecuencia del polimorfismo -592 de IL-10 en los grupos de estudio. El genotipo **heterocigoto CG** fue el más frecuente en todos los grupos, excepto en pacientes con TB y DM. La distribución del polimorfismo -819 de IL-10 fue de la siguiente manera: **Grupo sujetos sanos donadores de sangre**, homocigotos CC en 13 casos (27.6%), heterocigoto CT en 34 (72.4%) y no hubo homocigotos TT. En el grupo de **pacientes con TB y DM2**, homocigotos CC en 11 (52.3%), heterocigotos CT en 9 (42.8%) y homocigotos TT en 1 caso (4.9%). En el grupo de **sujetos sanos PPD+**, homocigoto CC en 3 casos (23%), heterocigoto CT 9 (69.2%) y homocigotos TT en 1 (7.8%).

Pacientes con **TB curada**, se encontró homocigotos CC en 9 (22.5%), heterocigotos CT en 31 casos (77.5%), sin heterocigotos CT. Finalmente en los pacientes con **TB no curada** se observó homocigoto CC en 12 casos (36.3%), heterocigoto CT en 20 (60.6%) y homocigoto TT en 1 paciente (3.1%). En la comparación entre pacientes con TB y DM contra aquellos con TB no curada, igual se encontró diferencia significativa ( $p < 0.001$ ).

**Conclusión:** La respuesta al tratamiento parece estar relacionada con la presencia de polimorfismos -592 y -1082 (hipoproducción). Así como la asociación de alguna inmunodeficiencia en pacientes con TB no curada, lo cual afecta mayormente en la resistencia al tratamiento.

## 2. Summary

---

### "Frequency of the Genetic Polymorphism of the Interleucina 10 in Patients with Pulmonary Cured and Not cured Tuberculosis"

Vera R, García E, et. al. UMAE HG "Dr. Gaudencio González ". Unit of Medical Investigation in Immunology and Infectology's. Medical National Center "La Raza", IMSS, Mexico.

**Precedents:** The Tuberculosis is considered to be the principal reason of death caused by an alone bacterium in the world, Mycobacterium tuberculosis. Many genes codify for different citocinas that can affect the susceptibility of the inn-keeper to tuberculosis. This study focuses on the study of the Interleucina 10 (IL-10), who is a citocina whose principal function is modular the immune response. The SNP's that they codify for the IL-10 have been associated with strong infections. Up to the moment little is known brings over of the frequency of the SNP's of the IL-10 (-1082,-819,-592,-127, +41) associated with the elimination or susceptibility to TB's infection.

**Objective:** To determine the polymorphisms of the patients with pulmonary cured and not cured tuberculosis, with DM2 and healthy subjects of the gene of the Interleucina 10 (-1082,-819,-592) by means of the technology of chain reaction of the polimerasa in real time; as well as the association of each one of the genes polymorphics of IL-10 in the evolution of the pulmonary tuberculosis.

**Material and Methods:** Type of study: Cross street Analytical. This study I lead to end from March, 2005 to May, 2006, in the Unit of Medical Investigation in Immunology and Infectology, of Infectology's Hospital of the Medical National Center "La Raza", 37 adult patients of the group were studied by cured TB and 40 adult patients by not cured TB, taking in counts the population of all the ages and of any sex with TBP rhyming couplets for age and sex with 21 patients with not cured TB and DM2, 47 donors of Bank of Blood of the CMNR and 13 healthy workers with positive PPD. The determination of polymorphisms of the IL10 fulfilled with the equipment Applied Biosystems 7300/7500. The frequency in the population (FP) represents the percentage of carrying individuals of a total allele of studied individuals and genic frequency (FG) is the frequency of the gene in the population. I apply Haldane's formula and Hardy Wienberg's balance in the population in question. The comparison of the frequencies was effected using Chi's test squared with the alteration of Yates.

**Results:** The frequency of the polymorphism-592 of IL-10 in the groups of study shows itself. The genotype heterocigoty CG was the most frequent in all the groups, except in patients with TB and DM. The distribution of the polymorphism-819 of IL-10 was of the following way: Group healthy donating subjects of blood, homocigoty CC in 13 cases (27.6 %), heterocigoty CT in 34 (72.4 %) and there was no homocigoty TT. In the group of patients with TB and DM2, homocigoty CC in 11 (52.3 %), heterocigoty CT in 9 (42.8 %) and homocigoty TT in 1 case (4.9 %). In the group of healthy subjects PPD +, homocigoto CC in 3 cases (23 %), heterocigoto CT 9 (69.2 %) and homocigotos TT in 1 (7.8 %).

Patients with cured TB, CT was homocigotos CC in 9 (22.5 %), heterocigotos CT in 31 cases (77.5 %), without heterocigotos. Finally in the patients with not cured TB CC was observed homocigoto in 12 cases (36.3 %), heterocigoto CT in 20 (60.6 %) and homocigoto TT in 1 patient (3.1 %). In the comparison between(among) patients with TB and DM against those with not cured, equal TB one found significant difference ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The response to the treatment seems to be related to the presence of polimorfismos-592 and-1082 (hipoproducción). As well as the association of some immunodeficiency in patients with not cured TB, which concerns mainly in the resistance the treatment.

**“FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO GENÉTICO  
DE LA INTERLEUCINA 10 EN PACIENTES  
CON TUBERCULOSIS PULMONAR CURADA  
Y NO CURADA”**

### 3. Antecedentes

---

La Tuberculosis (TB) es considerada la principal causa de muerte ocasionada por una sola bacteria en el mundo, *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Las micobacterias pertenecen al orden *Actinomicetales*, familia *Mycobacteriaceae*. Son bacilos delgados, aerobios, no esporulados, no capsulados e inmóviles. Aunque no se tiñen con facilidad, una vez que captan el colorante (fucsina fenicada con calor) resisten a la decoloración con alcohol acidificado y por ello se les llaman bacilos ácido-alcohol resistentes (1).

La OMS estima que 2/3 de la población mundial (2 322 millones de personas) están infectadas por *Mtb*, y que anualmente se presentan 8 millones de casos nuevos de Tb activa; de éstos 3 millones fallecen como resultado de enfermedad, encontrándose el 95 % de los casos nuevos y el 98 % de las defunciones en los países en desarrollo, ocurriendo a diferencia de los países desarrollados, en la población general, y la mayoría de los enfermos son adultos jóvenes y niños expuestos al contagio (2).

La progresión de la enfermedad por TB se ha descrito ampliamente en países donde la prevalencia es elevada. La infección ocurre en la infancia temprana, aunque se considera que menos del 10 % de las personas que se infectan por *Mtb*, desarrollan la enfermedad activa en un lapso que varía de 1 a 50 años (3).

Varios sucesos epidemiológicos que han tenido lugar en las últimas décadas, entre ellas la epidemia del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), iniciada en los años 80, han contribuido a que la TB haya vuelto a surgir como problema sanitario de primera magnitud, tanto en los países desarrollados como los que están en desarrollo (4).

En México, el riesgo de infección por tuberculosis de acuerdo a la OMS, es relativamente uniforme en la población en el orden de un 0.5%. Los casos nuevos registrados hasta la semana 18 del año 2006 fueron alrededor de 9,859 mil casos. De estos casos reportados menos del 5% fueron menores de 15 años y más del 90% tenían tuberculosis pulmonar. Por este motivo, es un problema importante de salud pública y está incluida entre las primeras 20 causas de muerte (5).

A pesar de que la enfermedad puede atacar cualquier parte del organismo, el sitio más afectado son los pulmones (>90%). Para luchar en contra de la infección resulta necesaria la detección temprana de casos nuevos con Tb activa, a fin de tratarlos oportunamente con fármacos antituberculosis indicados de manera efectiva; lo cual disminuye el riesgo de morir por esta enfermedad y, al mismo tiempo, bloquea la transmisión a otras personas, en el ambiente familiar, laboral y en la comunidad (6).

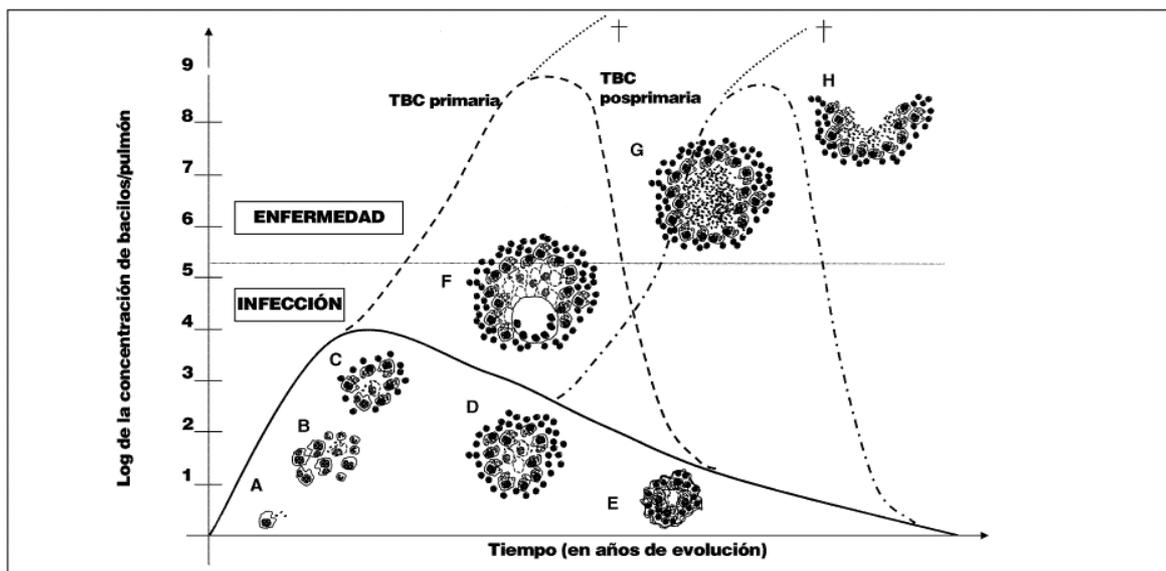
Actualmente, las tasas de morbilidad y mortalidad están aumentando a medida que han aparecido cepas de *Mtb* resistentes a múltiples drogas. Un tratamiento correcto ofrece a los pacientes muchas posibilidades de curarse, pero el uso inadecuado de los fármacos antituberculosis puede dar lugar a un gran número de enfermos crónicos que transmiten bacilos resistentes a los fármacos (7).

El principal reservorio de *Mtb* es el hombre enfermo. El bacilo se transmite por vía aérea. Al toser o expectorar, los enfermos con TB pulmonar (TBP) activa producen aerosoles contaminantes. Los mecanismos de defensa del árbol respiratorio son incapaces de impedir que lleguen hasta los alvéolos pulmonares, donde los bacilos encuentran las condiciones adecuadas para multiplicarse. En la primoinfección, una vez que *Mtb* llega al pulmón, es conducido por la corriente aérea hasta los lóbulos inferiores, que son los que proporcionalmente tienen más ventilación. El bacilo es fagocitado por

los macrófagos alveolares, y consigue evitar su destrucción. De esta manera el bacilo consigue multiplicarse en el interior del macrófago hasta el punto de destruirlo; y al mismo tiempo secreta citocinas y quimiocinas que desencadenan un proceso inflamatorio local y con ello una respuesta inespecífica de defensa que se caracteriza por el acúmulo inicial de neutrófilos y posteriormente de monocitos en el foco de infección. Los monocitos fagocitan a los bacilos que han destruido a los macrófagos alveolares y potencian su crecimiento, puesto que al no estar activados constituyen a su vez un excelente medio para el crecimiento intracelular de los mismos y de esta manera éste consigue diseminarse sistémicamente, invadiendo directamente las vénulas terminales o mediante el drenaje de monocitos infectados y bacilos extracelulares hacia los ganglios linfáticos hiliares y vasos linfáticos eferentes y empieza a generar el granuloma, que consta de un núcleo con macrófagos infectados y linfocitos a su alrededor (8).

Los linfocitos Th1 sintetizan interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ), que permite la activación de los macrófagos infectados y con ello la destrucción de entre el 90-95% de la concentración bacilar, consiguiendo el control del foco de infección. Posteriormente el granuloma entra en una fase crónica, debida probablemente a una disminución de la población de linfocitos Th1 como consecuencia de un aumento de la población linfocitaria de tipo Th2. Por otra parte, el granuloma tuberculoso se caracteriza por poseer tejido necrótico caseoso en su interior, formado por una trama de fibrina rica en ácido hialurónico y colágeno, que contiene bacilos extracelulares de metabolismo lento que son difíciles de ser reconocidos y destruidos por los macrófagos del granuloma. La formación de esta lesión es muy inicial y parece deberse a la destrucción ocasionada por la presencia de altas concentraciones locales de TNF- $\alpha$ , de enzimas proteolíticas liberadas por los neutrófilos y los macrófagos y la presencia de linfocitos CD4 específicos con propiedades citolíticas capaces de destruir a los macrófagos infectados (8, 9).

Con el tiempo, el granuloma tuberculoso adquiere otra característica particular: la formación de células multinucleadas de tipo Langerhans, a partir de la fusión de varios macrófagos. También es característica la presencia de linfocitos CD4 capaces de desencadenar una respuesta de hipersensibilidad retardada. Estos linfocitos reconocen cualquier foco infeccioso, por pequeño que sea, desencadenando una reacción que permite focalizar monocitos y linfocitos específicos alrededor del bacilo (o antígenos bacilares como la tuberculina PPD), evitando el crecimiento y la diseminación del mismo. Habitualmente (en un 90% de los casos), la pequeña población bacilar del granuloma crónico acaba siendo destruida previa fibrosis y reabsorción del granuloma, en un proceso de años de evolución. El 5-10% restante puede desarrollar la tuberculosis propiamente dicha (Figura 1) (8, 9).



**Representación gráfica de la historia natural de la tuberculosis humana.** Relación entre la histopatología y la concentración bacilar de los tejidos. A. El bacilo entra en contacto con un macrófago alveolar. B. El bacilo se divide en el interior del macrófago al mismo tiempo que se atraen al foco infeccioso macrófagos y neutrófilos. C. Adquisición de una inmunidad específica con la llegada de linfocitos capaces de activar a los macrófagos alveolares, inicio de la necrosis caseosa. D. Formación de un granuloma caseoso. E. Resolución del foco infeccioso mediante la esclerosis del granuloma. F. Evolución hacia enfermedad, formación de tuberculoma. G. Licuefacción del granuloma e incremento masivo de la población bacilar. H. Cavitación. La línea continua representa la evolución de la infección; las dos discontinuas representan la enfermedad primaria y la posprimaria que se resuelven; la punteada, la de la enfermedad que no se resuelve y finaliza con la muerte del huésped.

Existen evidencias que sugieren la participación de genes implicados en la susceptibilidad o en la protección a la progresión de la enfermedad en el humano. En algunos estudios se han descrito diferencias entre la infección y el desarrollo de TB entre diversos grupos étnicos, cepas de

animales de laboratorio y en la agregación familiar. Por otro lado, se han asociado a genes de HLA con el desarrollo de TB en distintos grupos étnicos, el alelo que específicamente se ha asociado con la susceptibilidad es el HLA-DR2 (10).

La mortalidad por *Mtb* permanece como la principal causa infecciosa y está ligada a una respuesta inmune inadecuada en el hospedero. Contener y curar la infección de Tb requiere una respuesta inmune celular efectiva y durante la infección activa de Tb, no se presenta la hipersensibilidad de tipo retardado DTH por sus siglas en inglés (Delay-type hypersensitivity) en respuesta a antígenos de la micobacteria (11).

Muchos genes codifican para diferentes citocinas que pueden afectar la susceptibilidad del hospedero a tuberculosis. La relación de los polimorfismos que se definen como cambio de una sola base Single Nucleotide Polymorphisms (SNP's) pueden determinar la susceptibilidad. Los genomas de los organismos superiores presentan un gran número de secuencias repetidas (12).

Este estudio se enfoca al estudio de la Interleucina 10 (IL-10), la cual es una citocina producida por linfocitos TH2, células B y macrófagos activados; su principal función es modular la respuesta inmune para mantener un control homeostático de la respuesta inmune innata y celular, también inhibe la producción de citocinas en los linfocitos Th1, células NK y APC, promueve la proliferación de las células B y respuesta de anticuerpos (13).

### 3. 1. INTERLEUCINA 10

La Interleucina-10 (IL-10) es una citocina homodimérica de 36 kDa que fue inicialmente denominada factor inhibidor de la síntesis de citocinas, fue descubierta como un producto de los linfocitos Th2 capaz de inhibir y regular la producción de citocinas por parte de los linfocitos Th1 (14). La localización del gen que codifica para esta citocina tan importante fue descrita dentro del cromosoma 1 (1q31-q32) (15).

La IL-10 es producida por los linfocitos Th2, los timocitos fetales activados, los macrófagos activados, los linfocitos B y los queratinocitos (16, 17). También es una citocina producida principalmente por monocitos y linfocitos. La IL-10 tiene un efecto de inmuno-regulación de la inflamación; es decir, regula la expresión de los linfocitos Th1 y de los antígenos presentados por moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC II) y moléculas co-estimuladoras en macrófagos, también mejora la sobrevivencia de los linfocitos B, proliferación y producción de anticuerpos (18).

La IL-10 puede inhibir la producción de  $\text{IFN}\gamma$  y IL-2 ya que la acción primaria se ejerce sobre los macrófagos previniendo la producción de IL-12, por lo tanto también inhibe la producción de citocinas pro-inflamatorias ( $\text{TNF}\alpha$ , IL-1 e IL-6) y de moléculas de adhesión como: ICAM-1 (16, 19, 20).

También existe evidencia que la IL-10 puede prevenir el fenómeno de apoptosis en linfocitos T que necesiten IL-2 (21). La IL-10 favorece la proliferación de los linfocitos B y la secreción de IgA, IgG1 e IgG3 y tendría fundamental importancia en el desarrollo de la respuesta inmune humoral (22, 23).

Los niveles de producción de IL-10 son por lo tanto críticos en la regulación de la respuesta inmune, controlando el balance entre la inflamación y la respuesta humoral, la expresión de IL-10 ha sido implicada en un gran número de enfermedades autoinmunes, incluyendo artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, entre otras (24, 25, 26).

### **3. 2. POLIMORFISMOS DE INTERLEUCINA 10**

Se han identificado polimorfismos (SNP's, por sus siglas en ingles) de la IL-10 en la región promotora del gen y analizar un efecto sobre la producción y el control de la salud en los individuos. Dentro de algunas investigaciones la longevidad humana parece estar relacionada con el funcionamiento optimo del sistema inmune, sugiriendo que algunos determinantes genéticos de longevidad pueden residir en algunos polimorfismos para los genes del sistema inmune que regulan la respuesta inmune, en particular genes de polimorfismos de citocinas. Un rol particular puede ser atribuido a la influencia de los polimorfismos de la citocinas en la eficiencia de la respuesta inmune contra agentes infecciosos (27).

El alelo del SNP de la IL-10 -592 (C/A) se ha asociado con la baja liberación de esta citocina y alta mortalidad en pacientes con enfermedades críticas, otros polimorfismos no están asociados a la liberación de IL-10, sepsis o mortalidad. El gen del polimorfismo de la IL-10 (-592) esta asociado con la baja estimulación de la liberación de IL-10 e incrementa la mortalidad (28).

En pacientes críticos, los niveles de IL-10 son mas altos que en los pacientes con sepsis o falla múltiple de órganos (29, 30). Y en pacientes con traumas se incrementa la producción de IL-10 relacionada con eventos sépticos (31). Sin embargo los diferentes polimorfismos y genotipos de la IL-10 no se han estudiado en pacientes críticos. Empero, se ha estudiado la relación entre los polimorfismos de la IL-10 y la estimulación con LPS y la liberación de IL-10 en personas sanas y la influencia de la producción de los diferentes genotipos y el desarrollo de la sepsis (32).

### 3. 3. INTERLEUCINA 10 Y TUBERCULOSIS

Los factores genéticos del individuo son realmente importantes para determinar la susceptibilidad y resistencia contra la TB, esto se ha logrado con un mejor entendimiento de las bases moleculares de SNP's. En un futuro se podrá tener mayores implicaciones para el desarrollo de terapias y vacunas (33).

Los SNP's que codifican para la IL-10 han sido asociados con fuertes infecciones. Hasta el momento poco se conoce acerca de la frecuencia de los SNP's de la IL-10 (-1082, -819, -592, -127, +41) asociados con la eliminación o susceptibilidad a la infección de TB (32, 33).

Se han reportado datos en la evaluación de la frecuencia de los polimorfismos funcionales en genes que codifican para la IL-10 -1082 (G/A), en un grupo de pacientes sicilianos afectados por Tb comparado con un grupo de individuos sanos viviendo en la misma región. Estos resultados sugieren que múltiples factores genéticos pueden afectar la capacidad de detener una infección y pueden predisponer a la muerte (27).

Para determinar que polimorfismo puede estar asociado con *Mycobacterium leprae* (*MbL*) se estudiaron los polimorfismos de la IL-10: -819 (C/T) Y -592 (C/A) en pacientes con *MbL* para analizar los diferentes genotipos. Para el gen de la IL.-10, la frecuencia del genotipo (-819 T/T), fue significativamente más alta entre pacientes con *MbL* que en los individuos sanos. Estos datos indican la relación que existe entre los SNP's de la IL-10 y el desarrollo de enfermedad (34).

Estos antecedentes han propuesto la explicación de la alta susceptibilidad asociada con los polimorfismos genéticos y la progresión de TB. Los polimorfismos de la proteína natural de resistencia asociada a macrófagos (NRAMP1), el receptor de la vitamina D, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-10

en pacientes camboyanos con TBP y controles PPD positivos fueron heterocigotos (-1082) para IL-10, y se asoció con susceptibilidad y resistencia a TBP (35). Sin embargo, monocitos de individuos que desarrollan tuberculosis innata producen mayor cantidad de IL-10 que los monocitos de individuos sanos (33). Estos datos confirman la importancia de conocer los genes de los polimorfismos de la IL-10 que influyen al desarrollo, susceptibilidad y severidad en humanos.

## *4. Justificación*

---

La tuberculosis constituye uno de los problemas de salud pública más importantes a nivel mundial, el incremento de esta enfermedad se debe particularmente a una respuesta inmune deficiente en un individuo inmunocomprometido y a la aparición de cepas resistentes a fármacos. Después de la detección de la infección de TB, esta puede tardar varias semanas o largos periodos.

La “American Thoracic Society” menciona que las características clínicas de la Tuberculosis se deben a una interacción hospedero micobacteria, donde el papel de los factores genéticos del hospedero no están bien definidos (15, 16).

En la actualidad existe controversia en el papel que juega la genética poblacional así como los diferentes polimorfismos de la IL-10 en la patogénesis y en la severidad de pacientes que presentan Tb.

La IL-10 es una citocina clave en la modulación de la respuesta inmune celular, cuyos niveles no han sido investigados con respecto a la severidad de la enfermedad. Con estos antecedentes consideramos importante evaluar la frecuencia de los polimorfismos genéticos de la IL-10 en pacientes con Tb.

## *5. Pregunta De Investigación*

---

¿Cual es la frecuencia de los polimorfismos genéticos de la Interleucina 10 (-1082, -819, -592,) en los pacientes con Tuberculosis pulmonar curada, no curada y los sujetos sanos?

## *6. Hipótesis*

---

La frecuencia de los polimorfismos (-1082, -819, -592) de IL-10 se encuentra disminuida aproximadamente en un 25% en los pacientes con tuberculosis pulmonar no curados en comparación con los pacientes con tuberculosis pulmonar curada y los sujetos sanos.

## *7. Objetivos*

---

### **5. 1. Objetivo General**

Determinar la frecuencia de los polimorfismos de IL-10 en los pacientes con tuberculosis pulmonar no curados en comparación con los pacientes con tuberculosis pulmonar curada (con y sin fármaco-resistencia) y los sujetos sanos.

## **5. 2. Objetivos Específicos**

- Determinar los polimorfismos de los pacientes con tuberculosis pulmonar curada y no curada y sujetos sanos del gen de la Interleucina 10 (-1082, -819, -592) mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.
- Determinar la asociación de cada uno de los genes polimórficos de IL-10 en la evolución de la tuberculosis pulmonar.
- Determinar la asociación de polimorfismos de IL-10 con la expresión de IL-10 en sangre periférica.

## *8. Material Y Métodos*

---

### **8. 1. DISEÑO DEL ESTUDIO:**

Transversal Analítico.

### **8. 2. POBLACIÓN DE ESTUDIO:**

Se estudiaron 37 pacientes adultos del grupo con TB curada y 40 pacientes adultos con TB no curada, tomando en cuenta la población de todas las edades y de cualquier sexo con TBP pareados por edad y sexo con 21 pacientes con TB no curada y DM2, 47 donadores de Banco de Sangre del CMNR y 13 trabajadores de la Salud sanos con PPD positivo.

### **8. 3. PACIENTES Y SUJETOS DE ESTUDIO:**

Se incluyeron en el estudio cinco grupos de pacientes:

1. Pacientes con tuberculosis curados.
2. Pacientes con tuberculosis no curados.
3. Individuos sanos trabajadores de la salud PPD positivos
4. Donadores sanos de banco de sangre.
5. Pacientes con DM2 y tuberculosis no curada.

De todos ellos se obtuvo un consentimiento informado para participar en el estudio.

### **ANEXO 1: Carta de consentimiento informado**

### **8. 4. UBICACIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL:**

Este estudio se llevo a cabo de marzo de 2005 a mayo de 2006, en la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología, del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”, la cual cuenta con el equipo y la infraestructura necesaria.

### **8. 5. CRITERIOS DE SELECCIÓN**

- **8. 5. 1. Criterios de inclusión:** Pacientes con TBP activa con baciloscopia y/o cultivo positivo sin cuadro de desnutrición previo a la TB, adultos de cualquier edad, de uno o de otro sexo.
- **8. 5. 2. Criterios de no selección:** Pacientes con infección aguda o crónica diferente de TB, pacientes con VIH, HCV o con alguna enfermedad autoinmune o historia de enfermedad inmunosupresora.
- **8. 5. 3. Criterios de exclusión:** Pacientes con muestra inadecuada.

## **8. 6. VARIABLES DE ESTUDIO**

### **8. 6. 1. Variable independiente**

#### **8. 6. 1. a. Polimorfismo (-1082) del gen de la IL 10**

*Definición conceptual:*

Polimorfismo genético de IL-10 (**-1082 G/A**). Es el cambio en la posición -1082 de una guanina por una adenina.

*Definición operacional:*

Se determinará los polimorfismos por la técnica de PCR en Tiempo Real. Se extraerá el DNA de sangre periférica, se amplificará por PCR Tiempo Real. Se considerará

*Escala de medición:*

Nominal.

### **8. 6. 1. b. Polimorfismo (-819) del gen de la IL 10**

*Definición conceptual:*

Polimorfismo genético de IL-10 (**-819 C/T**). Es el cambio en la posición -819 de una citosina por una timina.

*Definición operacional:*

Se determinará los polimorfismos por la técnica de PCR Tiempo Real. Se extraerá el DNA de sangre periférica, se amplificará por PCR Tiempo Real. Se considerará que

*Escala de medición:*

Nominal.

### **8. 6. 1. c. Polimorfismo (-592) del gen de la IL 10**

*Definición conceptual:*

Polimorfismo genético de IL-10 (**-592 C/A**). Es el cambio en la posición -592 de una citosina por una adenina.

*Definición operacional:*

Se determinará los polimorfismos por la técnica de PCR en Tiempo Real. Se extraerá el DNA de sangre periférica, se amplificará por PCR Tiempo Real. Se considerará

*Escala de medición*

Nominal.

### **8. 6. 2. Variables Dependientes**

### **8. 6. 2. a. Tuberculosis Curada**

*Definición Conceptual:*

Pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar corroborado por baciloscopia y/o cultivo, los cuales presentaron una respuesta adecuada al primer esquema de tratamiento recomendado por la OMS.

*Definición Operacional:*

Aquellos pacientes que acudan a su clínica de medicina familiar en la delegación 2 del CMNR, los cuales hayan presentado negativización de las baciloscopias y/o cultivos dentro de los tres meses de iniciado el primer esquema de tratamiento recomendado por la OMS.

*Escala de medición:*

Nominal

### **8. 6. 2. b. Tuberculosis no curada**

*Definición Conceptual:*

Es aquel paciente con diagnóstico de tuberculosis pulmonar que presenta falla al esquema recomendado por la OMS estando bajo la observación de un trabajador de la salud, el caso crónico ha recibido dos o más esquemas de tratamiento, completo o incompleto, y puede ser bacilífero o no.

*Definición Operacional:*

Pacientes que acudan a la consulta externa de neumología o a la clínica de tuberculosis, que tengan diagnóstico de tuberculosis pulmonar corroborado por cultivo, con más de 8 meses de evolución que hayan recibido más de un esquema de tratamiento recomendado por la OMS.

*Escala De Medición:*

Nominal

### **8. 6. 2. c. Tuberculosis no curada y Diabetes Mellitus 2**

*Definición Conceptual:*

Es aquel paciente con diagnóstico de tuberculosis pulmonar que presenta falla al esquema recomendado por la OMS estando bajo la observación de un trabajador de la salud, el caso crónico ha recibido dos o más esquemas de tratamiento, completo o incompleto, y puede ser bacilífero o no. Y además a quien se le haya diagnosticado médicamente DM2, de acuerdo a los criterios internacionalmente conocidos.

*Definición Operacional:*

Pacientes que acudan a la consulta externa de neumología o a la clínica de tuberculosis, que tengan diagnóstico de tuberculosis pulmonar corroborado por cultivo, con más de 8 meses de evolución que hayan recibido más de un esquema de tratamiento recomendado por la OMS. Y al mismo tiempo aquellos pacientes que hayan acudido a su consulta mensual de para control de glucemia, con diagnóstico clínico y analítico laboratorial, bajo esquema de tratamiento hipoglucemiante farmacológico o no farmacológico.

*Escala De Medición:*

Nominal

### **8. 6. 2. d. Sujetos Sanos PPD Positivos**

*Definición conceptual:*

Personal de la salud del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza” que asisten a realizar sus labores.

*Definición operacional:*

Personal de la salud del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza” que sean PPD positivo con lectura de 10 o más milímetros de diámetro de induración aplicada en la cara anterior del antebrazo, que se refiera asintomático y una Radiografía de tórax sin evidencia de afección pulmonar.

*Escala De Medición:*

Nominal

**8. 6. 2. e. Sujetos sanos donadores de sangre.**

*Definición conceptual:*

Sujeto que se encuentra en estado físico y mental, que aprobaron el proceso de selección establecido por la NOM-003 “Para la disposición de sangre y sus componentes”, para la donación de sangre.

*Definición operacional:*

Sujeto que al interrogatorio, exploración física y serología negativa para alguna enfermedad.

*Escala De Medición:*

Nominal

**8. 7. RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se contestó el cuestionario (**anexo 2**) en forma de entrevista; sin embargo, para algunas preguntas se tomo información del expediente clínico para evitar el sesgo de recuerdo (ambiselectivo).

La información obtenida en el anexo 2 se archivo hasta la obtención de todos los datos de cada paciente investigado. Se creo una base de datos y se procedió al análisis de la información, una vez que se identificaron los genotipos de todos los pacientes.

**ANEXO 2. Cuestionario para pacientes con los criterios establecidos.**

## **8. 8. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

Se recolectaron las muestras de sangre periférica, que corresponde a dos tubos de 5cc de Vacutainer<sup>MR</sup> con EDTA para biometría hemática y los ensayos específicos para determinar los polimorfismos de la IL-10.

Se obtuvieron las muestras de los cinco diferentes grupos: Pacientes curados, pacientes no curados, pacientes con DM2 y TB no curada, sujetos PDD positivos sanos y sujetos sanos.

Una vez que se tomo la muestra de sangre periférica y se interrogo al paciente, la muestra se transporto en una hielera especial con gel congelante para mantenerla a 4°C. Una vez en el laboratorio de la Unidad de Investigación Biomédica en Inmunología e Infectología se realizo la obtención de la separación de leucocitos sanguíneos y se obtuvieron células mononucleares mediante la técnica de Cloruro de Magnesio. A partir de las células mononucleares se extrajo el ADN de las células mediante el método de extracción de Fenol/Cloroformo modificada con reactivo de trizol.

Una vez que se obtuvo el ADN se cuantifico mediante un espectrofotómetro. Posteriormente se realizo una reacción en cadena de polimerasa en tiempo real para amplificar las regiones de interés. Por último se entregaron los resultados a los pacientes y se reportaron en las bitácoras respectivas.

## **8. 8. 1. OBTENCIÓN DE CÉLULAS SANGUÍNEAS CON $MgCl_2$**

### ***Método De Separación De Leucocitos Sanguíneos Con $MgCl_2$ a 5 mM.***

1. Extraer sangre venosa en 1 tubo de BH con EDTA (5mL.). Dejar sedimentar en refrigeración de 2 a 8 °C.
2. Se separa el plasma sobrenadante y se vacía el concentrado celular en un tubo Falcón de 50 mL.
3. Agregar solución de  $MgCl_2$  5 mM y se centrifuga a 3100 RPM por 10 minutos a 4°C. Se decanta.
4. Resuspender el paquete celular con 1 mL de  $MgCl_2$  5 mM y se pasan 500  $\mu$ l a un tubo Eppendorf de 1.5 mL cuando se vaya a iniciar extracción de ADN

## **8. 8. 2. EXTRACCIÓN DEL ADN**

### ***Extracción De ADN Técnica De Fenol/Cloroformo Modificada. Reactivo De Trizol.***

#### **Lisis y Homogeneización de la Muestra:**

1. A la suspensión de células mononucleares se adicionan 500  $\mu$ l del reactivo de trizol.

#### **Separación de Fases:**

2. Adicionar 100  $\mu$ l de cloroformo. Centrifugar 15 minutos a 14,000 RPM a 4°C. Separar la fase acuosa que contiene el ARN. El ADN se encuentra en la interfase.

#### **Precipitación Del ADN:**

3. Precipitar el ADN de la interfase con etanol (100 %). Centrifugar a 7,500 RPM durante 5 minutos a 4°C.

#### **Lavado Del ADN:**

4. Lavar el sedimento de ADN de la interfase 2 veces con una solución de citrato de Sodio 0.1 M en etanol al 10 %. Centrifugar 7,500 RPM por 5 minutos a 4 °C.

**Precipitación del ADN:**

5. Resuspender el ADN con 800  $\mu\text{l}$  de etanol al 75%. Centrifugar 7,500 RPM durante 5 minutos a 4°C. Eliminar el sobrenadante.

**Secado del ADN:**

6. Secar el ADN de 5 a 10 minutos a 45°C. Resuspender en 200  $\mu\text{l}$  de agua destilada inyectable.

**Lectura de ADN:**

7. Hacer una dilución de 1:100 con agua destilada inyectable. Leer a 260 nm en el espectrofotómetro (36).

**8. 8. 3. Metodología para realizar PCR en Tiempo Real  
(Discriminación Alelica) Applied Biosystems 7300/7500****Calculo de la Mezcla Reactiva**

1. En un tubo eppendorf (1.5 mL) colocar el volumen calculado para el número de muestras de la Master Mix (MM), el volumen calculado de la sonda y el volumen calculado de agua inyectable.

*Para un pocillo:*

*MM: 12.5  $\mu\text{l}$*

*Sonda: 1.25  $\mu\text{l}$*

*Agua Inyectable: 8.25  $\mu\text{l}$*

2. Hacer cálculos para el número de muestras por duplicado, tres controles y un pocillo por exceso.
3. En la placa (96 pozos) se coloca a cada pocillo 21  $\mu\text{l}$  (incluyendo los tres controles) de la mezcla anteriormente realizada.
4. Posterior a ello, se adiciona a cada pocillo 3  $\mu\text{l}$  de DNA de las muestras a trabajar. De igual manera, la misma cantidad de agua inyectable a los pocillos destinados a los controles.
5. Se cubre la placa con la cubierta óptica adhesiva.

**Análisis de los documentos**

6. Se observan las curvas de inflexión de para las muestras amplificadas.
7. Si hubo inflexión en los dos reporteros: VIC (alelo 1) y FAM (alelo 2), se interpreta como **heterocigoto**. Si solo se presenta una inflexión ya sea para VIC o FAM se interpreto como **homocigoto** para el que presento la inflexión.
8. Se anotan los resultados analizados para cada muestra.

#### **8. 8. 4. CONTROL DE CALIDAD**

En la parte clínica y experimental se utilizaron medidas generales de seguridad (uso de bata, guantes, cubre bocas, etc.).

En la parte experimental, las muestras se trabajaron bajo campana de flujo laminar (ambiente estéril) y material completamente sanitizado y estéril.

En las pruebas de laboratorio con reactivos comerciales se llevaron a cabo todas las instrucciones e indicaciones realizadas por el fabricante.

Para comprobar que realmente obteníamos DNA, después de la extracción se realizó una lectura en espectrofotómetro a 260 nm y a 280 nm para obtener el índice de pureza de la muestra.

En la PCR tiempo real se colocó un control negativo (NTC), esto por cada corrida, además de que cada muestra se monto y analizo por duplicado.

## **8. 9. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El estudio fue sometido a la evaluación por el Comité de Investigación del Hospital de Infectología “Dr. Daniel Méndez Hernández” CMN. “La Raza”, Instituto Mexicano del Seguro Social. Este estudio se apega totalmente a la norma ética de la Ley General de Salud y la declaración de estudio Helsinki, enmendada en 1993. Así como el Código Sanitario de los Estados Unidos Mexicanos.

Los pacientes recibieron toda la información acerca del propósito del estudio, tuvieron derecho a abandonarlo o rehusarse a participar, sin que esto repercuta en la calidad de su atención, sus datos fueron manejados confidencialmente.

## **8. 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

### **8. 10. 1. Cálculo del tamaño de la muestra**

Para el cálculo de tamaño de muestra, se utilizó la frecuencia general de los alelos en controles sanos reportada en estudios previos (37;38), la diferencia estimada para los diferentes alelos de los polimorfismos de la IL-10, en pacientes con TBP es aproximadamente de 25%, usaremos el método de comparación de proporciones tomando un nivel de confianza del 5 % y un poder del 80%.

### **8. 10. 2. Cálculo de frecuencias alélicas en la población y frecuencias génicas.**

La frecuencia en la población (FP) representa el porcentaje de individuos portadores de un alelo total de individuos estudiados y la frecuencia génica (FG) es la frecuencia del gen en la población. Se aplicó la fórmula de Haldane (45). Los datos que se obtienen son exactos siempre y cuando el sistema genético que se será probando se encuentre en equilibrio de Hardy Wienberg en la población en cuestión (39;40). La comparación de las frecuencias entre dos poblaciones (enfermos y testigos) se efectuó la elaboración de tablas de 2 x 2, y se utilizó prueba de Chi-cuadrada con corrección de Yates y exacta de Fisher (en el caso de celdas con número menor de 5), lo que permite evaluar la significancia estadística de una probable asociación entre el marcador y la enfermedad.

Si la frecuencia de un alelo se encontraba significativamente elevada en los pacientes, dicho alelo se asocia con la susceptibilidad y por el contrario, si se encontraba significativamente disminuida quiere decir que es un probable alelo de protección.

**Tabla de 2x2 para el cálculo de  $X^2$ . Polimorfismos de IL-10**

	<b>Con el alelo</b>	<b>Sin el alelo</b>	<b>Total</b>
No. Pacientes	A	B	A + c
No. Testigos	C	D	c + d
Total	a + c	b + d	N = a + b + c + d

Después, se realizará una estimación de la intensidad de la asociación mediante la (OR) Razón de Monomios que indica cuantas veces más riesgo tiene un individuo sano portador del alelo en cuestión de desarrollar la enfermedad. Mientras mayor sea este valor será el riesgo de desarrollar la enfermedad en presencia del alelo. Se consideró significancia estadística una  $p < 0.05$ . Se calculó Odds Ratio con 95% de IC.

## Resultados

Se incluyeron un total de 158 pacientes en 5 grupos, pacientes con con TB curada (40), TB no curada (33), pacientes con DM y TB (21), sujetos sanos trabajadores de la salud PPD+ (13), y sujetos sanos donadores de sangre (47). Las características generales se muestran en el cuadro 1.

<b>Cuadro 1</b>	<b>Características generales de pacientes en el estudio</b>				
	<b>Tb Curada (40)</b>	<b>Tb no curada (33)</b>	<b>Tb y DM (21)</b>	<b>PPD+ (13)</b>	<b>Sanos (47)</b>
Edad (años)	44.70	54.94	55.04	31.61	34.08
Femenino (%)	59.4%	62.5%	57.1%	38.4%	34.1%
Masculino (%)	40.6%	37.5%	42.9%	61.6%	65.9%

Cuadro 1. Características generales de pacientes. Se muestra promedio y desviación estándar.

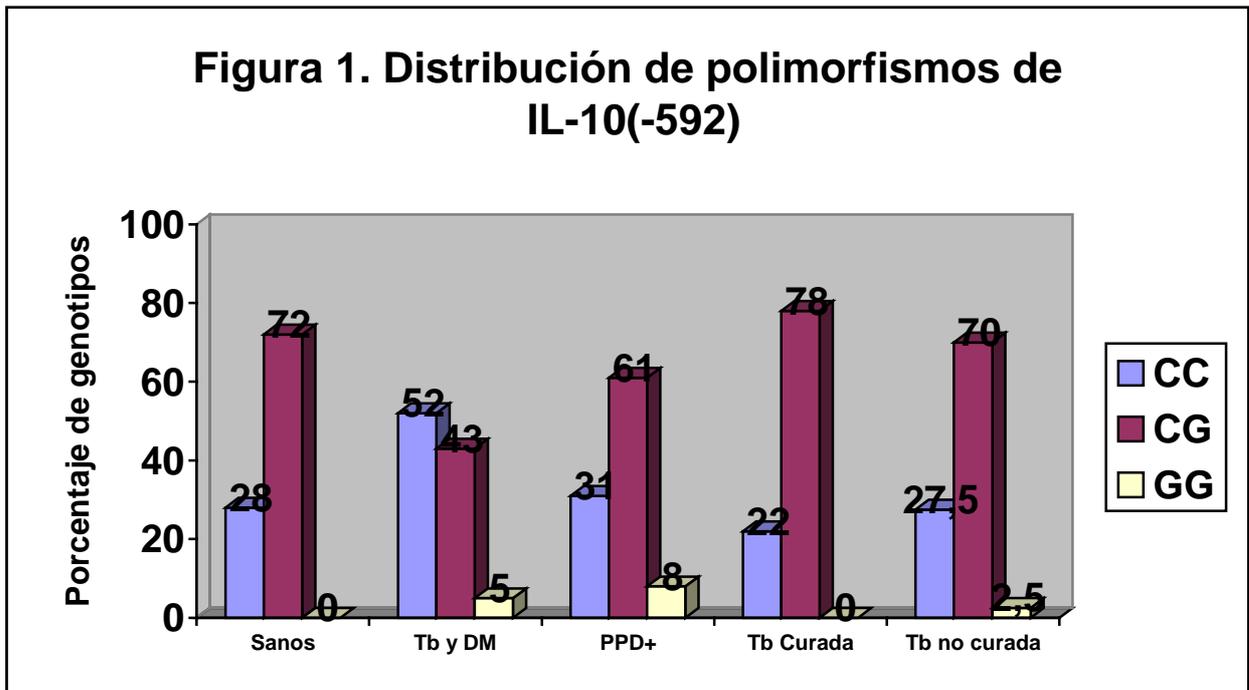
De los 158 pacientes, 83 (52.5%) correspondieron al genero femenino y 75 (47.5%) al masculino. Encontramos mayor numero de mujeres en el grupo de diabéticos y TB ( $p < 0.05$ ), debido a una mayor afluencia a las citas programadas en segundo nivel por parte de mujeres. Así como, un mayor numero de hombres en el grupo de donadores de sangre sanos ( $p < 0.05$ ), debido a mayor afluencia de donadores de sangre sanos que mujeres.

La edad de los grupos de pacientes con TB curada y no curada, y del grupo de DM2 y TB fue muy similar (51.5%). En el grupo de sanos la mediana encontrada fue de 32.8 años ( $p < 0.01$ ). Lo anterior a razón de que en el proceso de selección de donadores de sangre sanos, existe una limitante de edad, de 18 a 65 años como máximo.

El tiempo de evolución de DM en el grupo 3 fue de 10 a 12 años. Por otro lado, el tiempo de evolución promedio del grupo de TB no curada fue de 24 meses (rango de 6 a 252 meses;  $p < 0.001$ ); comparativamente con el grupo de TB curada, el cual fue de 6 meses (rango 5 a 48 meses).

La frecuencia del polimorfismo -592 de IL-10 en los grupos de estudio se muestra en la figura 1. El genotipo **heterocigoto CG** fue el más frecuente en todos los grupos, excepto en pacientes con TB y DM, como se observa en la figura 1.

Figura 1. Frecuencia del Polimorfismo -592 de IL-10.



La distribución del polimorfismo -819 de IL-10 fue de la siguiente manera: **Grupo sujetos sanos donadores de sangre**, homocigotos CC en 13 casos (27.6%), heterocigoto CT en 34 (72.4%) y no hubo homocigotos TT.

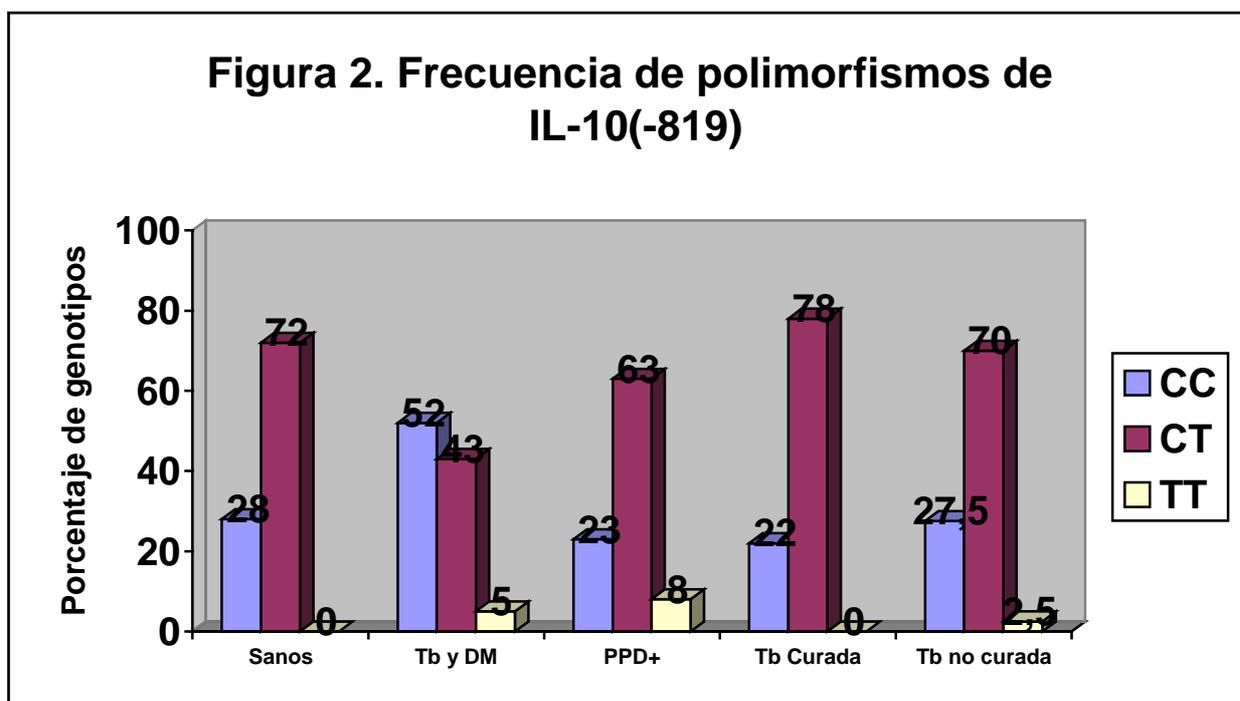
En el grupo de **pacientes con TB y DM2**, homocigotos CC en 11 (52.3%), heterocigotos CT en 9 (42.8%) y homocigotos TT en 1 caso (4.9%).

En el grupo de **sujetos sanos PPD+**, homocigoto CC en 3 casos (23%), heterocigoto CT 9 (69.2%) y homocigotos TT en 1 (7.8%).

Pacientes con **TB curada**, se encontró homocigotos CC en 9 (22.5%), heterocigotos CT en 31 casos (77.5%), sin heterocigotos CT.

Finalmente en los pacientes con **TB no curada** se observó homocigoto CC en 12 casos (36.3%), heterocigoto CT en 20 (60.6%) y homocigoto TT en 1 paciente (3.1%). Como se muestra en la figura 2.

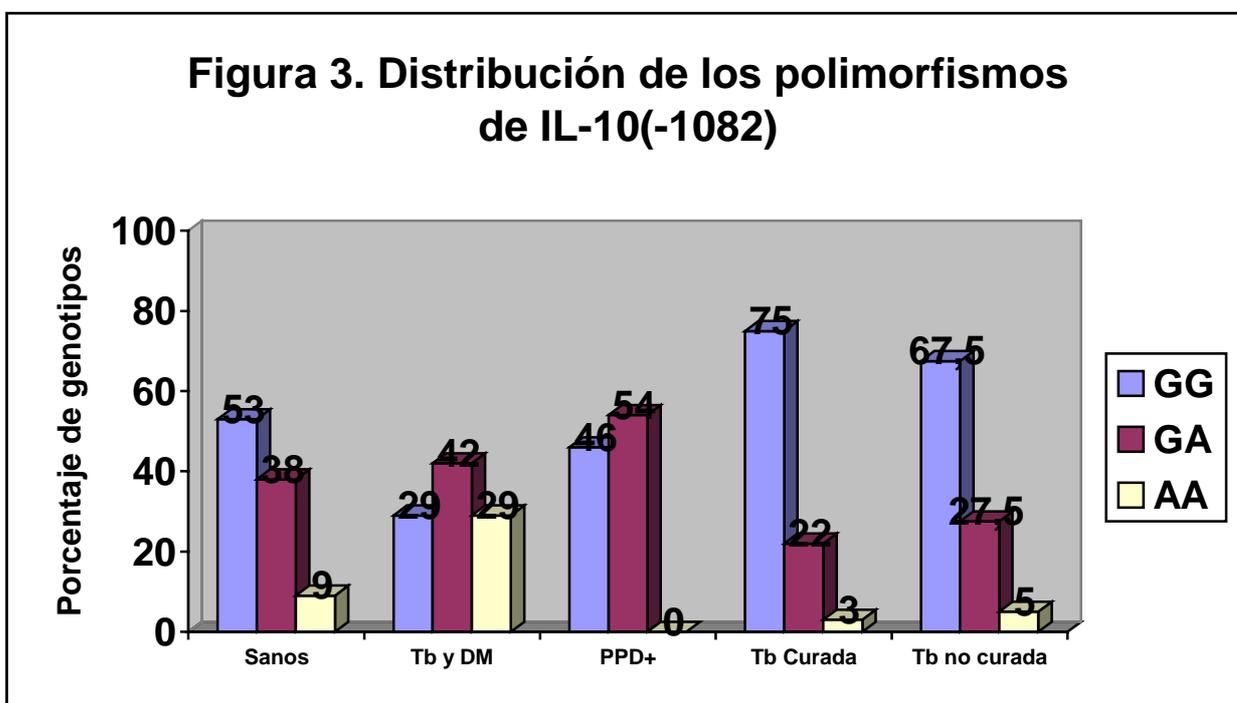
Figura 2. Frecuencia del polimorfismo -819 de IL-10 en los grupos de estudio.



La frecuencia del polimorfismo -1082 de IL-10 se muestra en la figura 3. Por grupo de estudio se encontró de la siguiente manera: **Grupo sanos**, genotipo homocigoto GG en 25 casos (53.1%), heterocigoto GA en 18 pacientes (38.2%) y homocigoto AA en 4 de ellos (8.7%). En el caso de aquellos con **TB y DM2**, homocigotos GG en 6 (28.5%), heterocigotos 9 (42.8%) y homocigotos AA en 6 casos (28.7%). Los

**sujetos sanos PPD+**, fueron homocigotos GG 6 (46.1%), heterocigotos GA 7 (53.9%) sin homocigotos AA. En los pacientes con **TB curada** homocigotos GG fueron 31 (77.5%), heterocigotos 8 (20%) y homocigotos AA 1 caso (2.5%), por último en los pacientes con **TB no curada**, hubo homocigotos GG en 22 (66.6%), heterocigotos GA con 9 (27.2%) y homocigotos AA en 2 (6.2%).

Figura 3. Distribución del polimorfismo -1082 de IL-10.



En el cuadro 1 se presentan los genotipos encontrados en los grupos de estudio, se muestra la asociación de frecuencias entre los polimorfismos de IL-10 (-592) y la presencia o ausencia de enfermedad.

Al analizar la diferencia de frecuencias en los polimorfismos de IL-10 (-592) en los grupos de estudio, se encontró diferencia significativa entre los pacientes sanos y del grupo con Tb y DM para los genotipos homocigoto CC y heterocigoto CG ( $p=0.031$ ).

**Cuadro 1.** Frecuencia de polimorfismos de IL-10 en los grupos de estudio y su asociación con la presencia o ausencia de enfermedad.

<b>Genotipo</b>	<b>Sanos (47)</b>	<b>Tb y DM (21)</b>	<b>PPD+ (13)</b>	<b>TB<sup>1</sup> (36)</b>	<b>TB<sup>2</sup> (40)</b>	<b>p</b>
CC	27.7	52.4	30.8	22.2	27.5	0.031
CA	72.3	42.9	61.5	77.8	70	
AA	0	4.8	7.7	0	2.5	

Frecuencia de polimorfismos de IL-10 (-592) en los grupos de estudio. Se encontró diferencia significativa entre los pacientes Sanos y el grupo con Tb y DM para los genotipos homocigotos CC y heterocigoto CG.

Tb<sup>1</sup> Tuberculosis curada Tb<sup>2</sup> Tuberculosis no curada

El análisis de la diferencia de frecuencias de los polimorfismos IL-10 (-819) se presenta en el cuadro 2.

Se diseñaron tablas 2 x 2 para cada genotipo en los diferentes grupos, se utilizó prueba de Chi-cuadrada y exacta de Fisher (cuando alguna celda mostrada un valor menor de 5).

Se encontró una diferencia significativa entre el grupo de sanos y con Tb y DM, para los alelos homocigotos CC y heterocigotos CT (p=0.031)

**Cuadro 2.** Distribución de frecuencias de polimorfismos de IL-10 (-592) en los diferentes grupos de estudio.

Genotipo	Sanos	Tb y DM	PPD+	Tb <sup>1</sup>	Tb <sup>2</sup>	p
	(47)	(21)	(13)	(36)	(40)	
CC	27.7	52.4	23.1	22.2	27.5	0.031
CT	72.3	42.9	62.9	77.8	70	
TT	0	4.8	7.7	0	2.5	

Distribución de frecuencias de polimorfismos de IL-10 (-819). Se encontró diferencia significativa entre los pacientes Sanos y aquellos el grupo con Tb y DM para los genotipos homocigotos CC y heterocigoto CT.

Tb<sup>1</sup> Tuberculosis curada Tb<sup>2</sup> Tuberculosis no curada

Los resultados del análisis de frecuencias de los polimorfismos de IL-10 (-1082) se muestran en el cuadro 3.

Se elaboraron tablas de 2 x 2 y se utilizó la prueba de Chi-cuadrada con corrección de Yates y exacta de Fisher en los casos donde alguna celda fue menor de 5.

Se encontró una diferencia significativa en las frecuencias de los polimorfismos entre los pacientes sanos y aquellos con Tb y DM para los genotipos homocigotos GG y AA (p=0.022).

**Cuadro 3.** Distribución de frecuencias de polimorfismos de IL-10 (-592) en los diferentes grupos de estudio.

Genotipo	Sanos	Tb y DM	PPD+	Tb <sup>1</sup>	Tb <sup>2</sup>	p
	(47)	(21)	(13)	(36)	(40)	
GG	53.2	28.6	46.2	75	67.5	0.022
GA	38.2	42.9	53.8	22.2	27.5	
AA	8.5	28.6	0	2.8	5	0.022

Diferencia de frecuencias de los polimorfismos de IL-10 (-1082). Hubo diferencia significativa entre los pacientes Sanos y del grupo con Tb y DM para los genotipos homocigotos GG y AA.

Tb<sup>1</sup> Tuberculosis curada Tb<sup>2</sup> Tuberculosis no curada

Al margen de los análisis anteriores, cuando buscamos la comparación entre pacientes con TB y DM contra aquellos con TB no curada, igual se encontró diferencia significativa ( $p < 0.001$ ).

## *Discusión*

La distribución de los polimorfismos del gen de la interleucina 10, parece tener una distribución étnica ya que su frecuencia varia dependiendo de la población estudiada, además de su asociación ya conocida con el Complejo Principal de Histocompatibilidad (27, 28, 29, 30, 41) (Ver Cuadro).

Cuadro comparativo de las diferentes frecuencias de genotipos de IL10 en 5 poblaciones distintas.

Cytokine	N. Ireland (n = 100)	Zulu (n = 86)	Omani (n = 80)	Singapore Chinese (n = 83)	Mexican Mestizos (n = 40)
IL-10 (G1082A) <sup>a</sup>					
G	57.5	38.1	34.8	2.5	35.9
A	42.5	61.9	65.2	97.5	64.1
Genotype					
GG	34.4	9.5	13.9	0	17.9
GA	46.2	57.1	41.8	4.9	35.9
AA	19.4	33.4	44.3	95.1	46.2
IL-10 (C819T) <sup>a</sup>					
C	81.7	66.1	75.3	32.7	59.0
T	18.3	33.9	24.7	67.3	41.0
Genotype					
CC	64.5	38.0	57.0	11.1	35.9
CT	34.4	56.0	36.7	43.2	46.2
TT	1.1	6.0	6.3	45.7	17.9
IL-10 (C592A) <sup>a</sup>					
C	81.7	66.1	75.3	32.7	59.0
A	18.3	33.9	24.7	67.3	41.0
Genotype					
CC	64.5	38.0	57.0	11.1	35.9
CA	34.4	56.0	36.7	43.2	46.2
AA	1.1	6.0	6.3	45.7	17.9

Se han encontrado relaciones estrechas entre los polimorfismos de IL10 y situaciones clínicas como por ejemplo, Lepra, Enfermedad Ácido Péptica, Cáncer de colon, enfermedad de Crohn, Lupus Eritematoso Sistémico, entre otras, con una relación directa entre la frecuencia de SNP's -1082 de IL10, asociados a un mal pronostico y/o complicaciones del paciente.

En la Tuberculosis Pulmonar se han reportado 4 resultados concluyentes al respecto. Scola y cols. Mencionan que los polimorfismos

funcionales en genes que codifican para la IL-10 -1082 (G/A), en un grupo de pacientes sicilianos afectados por Tb comparado con un grupo de individuos sanos viviendo en la misma región, sugieren que múltiples factores genéticos pueden afectar la capacidad de detener una infección y pueden predisponer a la muerte (27) Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Comparación del efecto genético del SNP -1082 de IL10 en estudios previos

Referencia	Población	Pacientes TB				Controles				
		AA	AG	GG	Frec.	AA	AG	GG	Frec	p
Delgado et al.	Camboyanos	86	259	11	0.39	39	64	3	0.33	0.03
López Maderuelo	Espanoles (blancos)	33	47	33	0.50	21	50	29	0.54	NS
Scola et al	Sicilianos	17	22	6	0.38	24	77	13	0.45	0.05
Bellamy et al	Gambianos	165	185	51	0.36	179	184	45	0.34	NS
Doo Shin	Coreanos	394	53	2	0.06	718	124	9	0.08	0.05

En nuestro estudio las frecuencias encontradas de los genotipos presentaron ciertas similitudes con respecto a las cifras reportadas en la literatura.

La frecuencia general del SNP -592C (Con CITOSINA e hiperproductor de IL10) reportada por Ashley fue de 35.9%, y la de -592A fue de 17.9%. En nuestros controles sanos, las frecuencias son -592C de 27.7% y -592A 0%, respectivamente con una diferencia no significativa estadísticamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Frecuencias de Polimorfismos de IL10 (-592)

Frecuencias de SNP -592						
	ASHLEY	SANOS	TB Y DM	PPD+	TB CURADA	TB NO CURADA
CC	35.9	27.7	52.4	30.8	22.2	27.5
CA	46.2	72.3	42.9	61.5	77.8	70
AA	17.9	0	4.8	7.7	0	2.5

Las frecuencias para el SNP -819 (C/T) de IL10, fueron prácticamente iguales a las del SNP -519, dado que existe un desequilibrio de enlace y estos dos SNP's comparten el mismo lugar génico (Cuadro 6).

Cuadro 6. Frecuencias de Polimorfismos de IL10 (-819)

<b>SNP -819</b>						
	ASHLEY	SANOS	TB Y DM	PPD+	TB CURADA	TB NO CURADA
CC	35.9	27.7	52.4	23.1	22.2	27.5
CT	46.2	72.3	42.9	62.9	77.8	70
TT	17.9	0	4.8	7.7	0	2.5

Para el SNP -1082 de IL10, encontramos una frecuencia 34% mas alta en nuestra población de sanos, que la reportada por Ashley y Cols., donde ellos encuentran un 17.9% para el SNP -1082G (hiperproductor de IL10); y en este estudio se encontró una frecuencia de 53.2% con una  $p < 0.05$  (Cuadro 7).

Cuadro 7. Frecuencias de Polimorfismos de IL10 (-1082)

<b>SNP -1082</b>						
	ASHLEY	SANOS	TB Y DM	PPD+	TB CURADA	TB NO CURADA
GG	17.9	53.2	28.6	4.62	75	67.5
GA	35.9	38.2	42.9	5.38	22.2	27.5
AA	46.2	8.5	28.6	0	2.8	5

Por otro lado, se encontró que la frecuencia de los SNP's -592 y -1082 en el alelo hipoproducción para ambos (A), era estadísticamente significativa e dos grupos de nuestro estudio: Pacientes con DM y TB y con el grupo de pacientes con TB no curada. Lo cual hace suponer que la hipoproducción de IL10 puede verse influenciada con la presencia de alguna inmunodeficiencia del paciente, y condicionar así, su respuesta al tratamiento.

## *Conclusiones*

---

La respuesta al tratamiento parece estar relacionada con la presencia de polimorfismos -592 y -1082 (hipoproducción).

Así como la asociación de alguna inmunodeficiencia en pacientes con TB no curada, lo cual afecta mayormente en la resistencia al tratamiento.

En los pacientes con TB y DM2 el genotipo mas frecuente para el SNP -592 fue CC, lo cual confiere mayor susceptibilidad a la enfermedad y menor respuesta al tratamiento.

En los pacientes con TB curada y los sujetos sanos, el genotipo mas frecuente para el SNP -1082 fue GG, y al parecer están relacionados con protección a la TBP y con buena respuesta al tratamiento.

Hace falta realizar estudios de este tipo en población mexicana con grupos mas afluentes para obtener datos mas fidedignos y comparativos entre un grupo y otro.



9. Dannenberg AM, Jr. *Roles of cytotoxic delayed-type hypersensitivity and macrophage-activating cell-mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis.* Immunobiology 1999; 191:461-473.
10. Raviglione MC, Snider DE Jr, Kochi A. *Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic.* JAMA 2000; 273:220-226.
11. Boussiotis VA, Tsai EY, Yunis EJ, Thim S, Delgado JC, Dascher CC et al. *IL-10-producing T cells suppress immune responses in anergic tuberculosis patients.* J Clin Invest 2000; 105(9):1317-1325.
12. Charlesworth B, Sniegowski P, Stephan W. *The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes.* Nature 1999; 371(6494):215-220.
13. Opdal SH, Opstad A, Vege A, Rognum TO. *IL-10 gene polymorphisms are associated with infectious cause of sudden infant death.* Hum Immunol 2003; 64(12):1183-1189.
14. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. *Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones.* J Exp Med 1999; 170(6):2081-2095.
15. Tautz D. *Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers.* Nucleic Acids Res 1998; 17(16):6463-6471.
16. Ricardo Anibal Margni. *Inmunología e Inmunoquímica Fundamentos.* Editorial Medica Panamericana 5ta. ed. Buenos Aires: 1996.

17. Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, O'Garra A. *Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor*. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:683-765.
18. Go NF, Castle BE, Barrett R, Kastelein R, Dang W, Mosmann TR et al. *Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells*. *J Exp Med* 1999; 172(6):1625-1631.
19. De Waal MR, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. *Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes*. *J Exp Med* 2000; 174(5):1209-1220.
20. Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM. *IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression*. *J Immunol* 1999; 151(3):1224-1234.
21. Taga K, Chretien J, Cherney B, Diaz L, Brown M, Tosato G. *Interleukin-10 inhibits apoptotic cell death in infectious mononucleosis T cells*. *J Clin Invest* 2001; 94(1):251-260.
22. Cataldo F, Lio D, Marino V, Scola L, Crivello A, Mule AM et al. *Cytokine genotyping (TNF and IL-10) in patients with celiac disease and selective IgA deficiency*. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(4):850-856.
23. Lio D, Scola L, Crivello A, Colonna-Romano G, Candore G, Bonafe M et al. *Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF-alpha -308 promoter SNP*. *J Med Genet* 2003; 40(4):296-299.
24. Cohen SB, Katsikis PD, Chu CQ, Thomssen H, Webb LM, Maini RN et al. *High level of interleukin-10 production by the activated T*

- cell population within the rheumatoid synovial membrane. Arthritis Rheum* 1999; 38(7):946-952.
25. Cush JJ, Splawski JB, Thomas R, McFarlin JE, Schulze-Koops H, Davis LS et al. *Elevated interleukin-10 levels in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum* 1999; 38(1):96-104.
  26. Katsikis PD, Chu CQ, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. *Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. J Exp Med* 1999; 179(5):1517-1527.
  27. Scola L, Crivello A, Marino V, Gioia V, Serauto A, Candore G et al. *IL-10 and TNF-alpha polymorphisms in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis: implication for ageing and life span expectancy. Mech Ageing Dev* 2003; 124(4):569-572.
  28. Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, Webster NR. *Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. Crit Care Med* 2003; 31(1):34-38.
  29. Doughty L, Carcillo JA, Kaplan S, Janosky J. *The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin 10 response in pediatric sepsis-induced multiple organ failure. Chest* 1998; 113(6):1625-1631.
  30. Gomez-Jimenez J, Martin MC, Sauri R, Segura RM, Esteban F, Ruiz JC et al. *Interleukin-10 and the monocyte/macrophage-induced inflammatory response in septic shock. J Infect Dis* 1999; 171(2):472-475.
  31. Lyons A, Kelly JL, Rodrick ML, Mannick JA, Lederer JA. *Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection. Ann Surg* 2001; 226(4):450-458.

32. Lowe PR, Galley HF. *A novel PCR-rFLP assay for the detection of the single nucleotide polymorphism at position -1082 in the human IL-10 gene promoter.* Eur J Immunogenet 2001; 28(5):563-564.
33. Awomoyi AA, Marchant A, Howson JM, McAdam KP, Blackwell JM, Newport MJ. *Interleukin-10, polymorphism in SLC11A1 (formerly NRAMPI), and susceptibility to tuberculosis.* J Infect Dis 2002; 186(12):1808-1814.
34. Santos AR, Suffys PN, Vanderborght PR, Moraes MO, Vieira LM, Cabello PH et al. *Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy.* J Infect Dis 2002; 186(11):1687-1691.
35. Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. *Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis.* J Infect Dis 2002; 186(10):1463-1468.
36. Marmur J, Kirby K. SS Phenol/chloroform extraction and ethanol precipitation. P16-21. Basic methods in molecular biology. 1994. 2<sup>a</sup>.
37. Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, Webster NR. Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. Crit Care Med 2003; 31(1):34-38.
38. Lowe PR, Galley HF. *A novel PCR-rFLP assay for the detection of the single nucleotide polymorphism at position -1082 in the human IL-10 gene promoter.* Eur J Immunogenet 2001; 28(5):563-564.
39. Takiff H. The role of human genetic factors in susceptibility to tuberculosis. Acta Cient Venez 2001; 52(Suppl 1):16-18.
40. Zachary AA. Statical Analyses of genetic Data. ASHI Quaterly 1995;4-7.

41. Ashley M, Owen A, Gorodezky C. Frequency of Cytokine Polymorphisms in Populations From Western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America. *Human Immunolgy*, 1055-1063.

# Anexo 1

México D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 200

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Por medio de la presente y en pleno uso mis facultades, Yo

---

doy mi **CONSENTIMIENTO**, para participar en el protocolo de investigación **“Influencia de los polimorfismos de interleucina 10 en la expresión de IL-10 y severidad en pacientes con tuberculosis pulmonar.”**

Registrado ante el comité local de investigación con el número 07-13-04-04. El cual se realizará en la Unidad de Investigación del Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”. La Dra. Leila Vera Ramírez me ha explicado que el **objetivo** del estudio es conocer la frecuencia de un gen (elemento responsable de la herencia) y sus polimorfismos (cambio de una base nucleotídica) de la Interleucina 10 (molécula que modula la respuesta inmune, regula la inflamación, mejora la producción de anticuerpos) en los pacientes con tuberculosis pulmonar que no responden al tratamiento, en los que sí responden y en personas sanas, la información que se obtenga será manejada de manera **confidencial**, el estudio **no tiene costo** alguno para mí o mis familiares, y **no interferirá** con mi tratamiento. Consiste en la toma de una muestra de sangre de mi brazo, por personal capacitado y cuyos **riesgos** se me explicaron (hematoma, infección, flebitis, etc.) además debo contestar unas preguntas referentes a mi padecimiento.

Es posible que **no se produzca beneficio directo** o a corto plazo para mí. Mi participación en este estudio es enteramente **voluntaria**, se respetará **mi decisión**, sin que por ello se me **niegue el servicio o se me condicione**.

---

Nombre y Firma del paciente

---

Nombre y Firma del Medico

---

Testigo

---

Testigo

Dra. En CM. Guadalupe de los Ángeles García Elorriaga, Dra. Leila Vera Ramírez. Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología. CMN. “La Raza” Tel. 57245900 Ext. 23972. Cel. 04455-54748849.

## Anexo 2

### HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

“Frecuencia de polimorfismos de la Interleucina 10 en pacientes  
con tuberculosis pulmonar curada y no curada”

---

---

Fecha: \_\_\_\_\_

#### Datos del Paciente:

<b>Nombre:</b>			
<b>Edad:</b>	<b>Sexo:</b>	<b>Talla:</b>	<b>Peso:</b>
<b>Ojos:</b>	<b>Tez:</b>	<b>Cabello:</b>	
<b>Ocupación:</b>		<b>Lugar de Nacimiento:</b>	

#### Datos de los lugares de nacimiento de su familia:

<b>Padre</b>	
<b>Madre</b>	
<b>Abuelos Paternos</b>	
<b>Abuelos Maternos</b>	
<b>Bisabuelos</b>	

---

---

#### 1. Viajes al extranjero:

Lugar: \_\_\_\_\_

Estancia: \_\_\_\_\_

Hace cuanto tiempo?: \_\_\_\_\_

**2. ¿Familiares con diagnóstico de TB?:**

Parentesco: \_\_\_\_\_

Tiempo de

Convivencia: \_\_\_\_\_

---

---

**3. En su diagnóstico de TB**

**¿Incluye otra enfermedad?**

¿Cuál(es)? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**4. ¿Cómo se realizó el diagnóstico de TB?**

- a) Baciloscopia y/o cultivo.
- b) Por Rx más baciloscopia y/o cultivo
- c) Cuadro clínico más baciloscopia y/o cultivo
- d) Por Rx + cuadro clínico + baciloscopia y/o cultivo.
- e) Otra Forma (especificar): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**5. Tiempo de Evolución del Diagnóstico a la fecha:**

- a) 0 a 5 meses
- b) 6 a 9 meses
- c) 9 a 12 meses
- d) 13 a 24 meses
- e) Mas de 24 meses (especificar): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**6. ¿Qué esquema de tratamiento recibió una vez establecido el diagnóstico?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**7. ¿Ha suspendido**

**el tratamiento?**

¿Por qué?:

---

---

---

**8. ¿Cuántas veces ha reiniciado el tratamiento?**

a) Ninguna (1 ET)

b) 1 vez (2 ET)

c) 2 veces (3 ET)

d) 3 veces (4ET)

e) Más de 3

(especificar): \_\_\_\_\_

---

---

**9. ¿Ha sido dado de alta por curación?**

Tiempo que duró en

tratamiento: \_\_\_\_\_

---

**10. ¿Ha tenido recaídas?**

¿Cuántas?:

---

**11. ¿Ha presentado toxicidad por antifímicos?**

¿Cuáles?:

---

---

---

**12. ¿Qué esquema de tratamiento (ET) recibe actualmente?:**

---

---

---

---

**13. ¿Ha recibido TAES?**

¿En que esquema?

---

**14. Resultado del último cultivo:**

---

Fecha de realización:

---

**15. ¿Le han hecho estudios de Fármaco – resistencia?**

Resultado:

---

---

---

**16. Resultado de la Radiografía:**

---

---

**17. Resultado del PPD, tiempo y tamaño de induración:**

Fecha en que se realizó:

---

<b>Resultado</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Tamaño</b>

Observaciones:

---

---

---

---

