



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

SECRETARIA DE SALUD



***“RESPUESTA INMUNE INNATA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS
PULMONAR Y DIABETES MELLITUS TIPO2”***

T É S I S D E P O S G R A D O

PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA SUBESPECIALIDAD DE

NEUMOLOGÍA

P R E S E N T A:

DRA. ARANGO GOPAR ESMERALDA

TUTOR:

DRA. ALEJANDRA RENATA BAEZ SALDAÑA

CO-TUTORES:

DR. RICARDO LASCURAIN LEDESMA



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.

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

PROFESOR TITULAR DEL CURSO
DR. MARGARITA FERNANDEZ VEGA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE POSGRADO CONACYT EN NEUMOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

ASESOR DE TESIS
DRA. ALEJANDRA RENATA BAEZ SALDAÑA
JEFE DEL SERVICIO CLÍNICO NEUMOLOGÍA ONCOLÓGICA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

**“RESPUESTA INMUNE INNATA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS
PULMONAR Y DIABETES MELLITUS TIPO2”**

AUTORES

DRA. ESMERALDA ARANGO GOPAR

Residente de cuarto año de Neumología

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

“Ismael Cosío Villegas”

TUTORES

TUTOR: DRA. ALEJANDRA RENATA BAEZ SALDAÑA

Jefe del Servicio Clínico Neumología Oncológica

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

“Ismael Cosío Villegas”

CO – TUTOR:

DR. Ricardo Lascurain Ledesma

Investigador Adscrito del departamento de investigación en bioquímica

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

“Ismael Cosío Villegas”

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mi madre, por sus consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, por su apoyo incondicional que he recibido a lo largo de toda mi vida.

A mis hermanos Nancy, César y Rodrigo, por creer en mí ya que siempre estuvieron impulsándome, gracias por su fortaleza, por el ejemplo de vida que siempre me ha dado, porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo llegar hasta aquí, los amo.

Gracias a todos mis maestros y en especial a la Dra. Baez por ser una personal muy valiosa que contribuyo a mi formación como médico, y por su apoyo absoluto para concluir con este proyecto.

INDICE

Abreviaturas	6
Resumen	7
Introducción.....	8
Justificación	14
Objetivos	14
Material y métodos	15
Resultados	21
Discusión	25
Conclusión.....	30
Bibliografía.....	31
Anexos	36

ABREVIATURAS

DM	Diabetes mellitus
TBPBC	Tuberculosis pulmonar bacteriológicamente comprobada
TNF	Factor de necrosis tumoral
INF	Interferon
IL	Interleucina
PCR	Proteína C reactiva
VSG	Velocidad de sedimentación globular
DHL	Deshidrogenasa láctica
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
IMC	Índice de masa corporal

RESUMEN

Introducción: Diversos aspectos de la inmunidad se encuentran alterados en los pacientes con DM tipo 2. La inmunidad celular innata parece ser la más afectada, la inmunidad celular adaptativa se ve afectada, con una disminución de la respuesta proliferativa linfocítica a estímulos y a algunos patógenos.

Objetivos: Comparar los niveles de biomarcadores de inflamación como PCR, VSG, albúmina, DHL y la producción de citocinas intracelulares ($TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL-12, IL-10) en pacientes con tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente (TBPCB) y diabetes con TBPCB sin diabetes.

Material y métodos: Estudio prospectivo transversal de pacientes consecutivos con diagnóstico de Tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente (TBPCB) y diabetes mellitus tipo 2 y pacientes con TBPCB sin diabetes tipo. Los pacientes fueron reclutados de la clínica de tuberculosis tanto de hospitalización como de la consulta externa. Todos los pacientes recibieron el tratamiento antituberculosis de acuerdo a la NOM-006-SSA2-1993. Los biomarcadores de inflamación fueron determinados por el laboratorio clínico del INER. La medición de la expresión de $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, IL-12 e IL-10 en células de sangre periférica. Las comparaciones entre dos grupos se realizaron con prueba de T o U-Mann Whitney de acuerdo a la distribución de las variables. Para la comparación de frecuencias se utilizó χ^2 . Se realizó correlación de Spearman entre los niveles de los biomarcadores y los niveles de glucemia.

Resultados: Se encontraron una tendencia hacia niveles más altos de $IFN\gamma$, en el grupo de pacientes con DM y TB. Los niveles de IL-10, IL-12 e $TNF\alpha$ fueron más bajos en el grupo de pacientes con TB y DM.

Conclusión: Existe una compleja interrelación entre la DM y TB, se demuestra que el perfil de citocinas es variable, en especial el $IFN\gamma$ resulto estar elevado en los pacientes con TB y DM. Estos datos proporcionan la base para otros estudios centrados en vías específicas y tener una mejor comprensión de los eventos celulares y moleculares que subyacen a la asociación entre estas dos patologías.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales consecuencias de la pandemia de la diabetes tipo 2 es el incremento en la susceptibilidad a las infecciones, entre ellas la tuberculosis, que es una de las más frecuentes en este grupo de pacientes.¹

Aunque esta asociación se ha reconocido desde hace más de un siglo, es hasta últimas décadas en que se toma en cuenta el impacto a nivel de la salud pública de dicha asociación y el estudio de sus potenciales mecanismos. Por otra parte, las bases moleculares de esta susceptibilidad aún no son totalmente claras.²

Actualmente se considera que la inflamación es un aspecto central en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones incluyendo enfermedad macro y microvascular y enfermedades infecciosas incluyendo la tuberculosis, sin embargo, el origen de la inflamación no está claro, mientras la inflamación puede causar daño tisular extenso y muerte, también es esencial en la protección del hospedero contra la infección.³ Las citocinas de la inmunidad innata y adaptativa participan en la respuesta a *Mycobacterium tuberculosis*, con la subsecuente inducción de respuesta inmune tipo Th1, que es crítica para la protección.⁴

Existe evidencia de que la mayor susceptibilidad de los pacientes con diabetes a la tuberculosis tiene su explicación en deficiencias de la inmunidad innata y adquirida, las cuales son más acentuadas cuando la diabetes está mal controlada sin embargo hay discrepancias en relación a los niveles de expresión de citocinas como IFN γ en pacientes con diabetes y tuberculosis.⁵ Adicionalmente hay estudios que demuestran que el estado hiperglucémico perpetúa las alteraciones inmunológicas e inflamatorias en los pacientes con diabetes⁶

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa que afecta a un tercio de la población mundial. La Organización Mundial de la Salud reporto en el año 2012 que hay 9 millones de casos nuevos y 1.5 millones de muertes por año causadas por esta enfermedad, la mayoría de estas ocurren en países en desarrollo.

Las personas infectadas con tuberculosis latente tienen el riesgo de desarrollar tuberculosis activa. De estas las que tiene un sistema inmunitario debilitado corren un riesgo mucho mayor de enfermar de tuberculosis.⁷

Es importante resaltar que en las últimas décadas, la incidencia de tuberculosis ha disminuido en los países con ingresos altos, pero la incidencia sigue siendo elevada en países con altas tasas de infección por el VIH, alta prevalencia de desnutrición o en los cuales existe una infraestructura deficiente para el control de la misma. Otro de los factores para esta incidencia es que la prevalencia de la diabetes mellitus a nivel mundial continúa en incremento, impulsada por la obesidad.⁸

La prevalencia a nivel mundial de diabetes se proyecta que se eleve de 171 millones en el 2000 a 366 millones en el 2030.⁹ Para este año se calcula que más del 70% de las personas con diabetes vivirán en países en desarrollo. Es una enfermedad que afecta de manera predominante a personas en edad productiva por lo que conlleva un devastador impacto económico.¹⁰

En el 2012 se reportaron 350 millones de personas con diabetes mellitus y su prevalencia fue similar en países desarrollados y en desarrollo. El 80% de las muertes ocurre en países con bajos y medianos ingresos. El cambio demográfico más importante a través del mundo parece ser el incremento de la población >65 años.⁹

En México, se ha documentado que tanto la diabetes como la tuberculosis representan graves problemas de salud pública.¹¹ Durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes se ha incrementado y actualmente figura entre las primeras causas de muerte en el país. Los datos de la ENSANUT 2012 identifican a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, es decir, 9.2% de los adultos en México han recibido ya un diagnóstico de diabetes. El total de personas adultas con diabetes podría ser incluso el doble, de acuerdo a la evidencia previa sobre el porcentaje de diabéticos que no conocen su condición¹²,

¹³ La prevalencia de DM tipo 2 en adultos de 20 a 79 años de edad fue de 6.6% y 20% en los de 60-69 años. Se ha estimado que la esperanza de vida de individuos con diabetes se reduce hasta entre 5 y 10 años.³

La tuberculosis permanece como una situación problemática con tasas estimadas de 20 casos por 100,000 habitantes. En un reporte reciente del sistema nacional de vigilancia Epidemiológica de Tuberculosis- Dirección General de Epidemiología refiere que durante el periodo de 2000-2010 el número de casos nuevos no sólo se ha incrementado, sino que se ha agravado debido a su asociación con otras patologías, dentro de las cuales se encuentra la diabetes.¹⁴

La relación entre la diabetes mellitus y la tuberculosis ha sido reconocida desde hace siglos.¹⁵ Múltiples estudios, incluyendo revisiones sistemáticas y estudios en México, demuestran que la diabetes se encuentra fuertemente asociada a tuberculosis. Dependiendo de la serie el riesgo relativo variara de 1.5 a 3.11.^{16,17}

Múltiples estudios demuestran que la diabetes se encuentra fuertemente asociada a tuberculosis en población mexicana y en americanos de origen hispano, estas observaciones son de gran importancia científica en el ámbito de la salud pública, indicativos de un desequilibrio de la respuesta inmune en pacientes con diabetes, y de la importancia de la identificación de factores de riesgo genético y ambientales asociados al control de los pacientes con diabetes en comunidades expuestas a tuberculosis.^{18,19}

Esta asociación cobra valor ya que hay una creciente evidencia de que la diabetes mellitus es un importante factor de riesgo para la tuberculosis la cual podría afectar a la presentación y la respuesta al tratamiento de la tuberculosis. Por otra parte, la tuberculosis podría inducir intolerancia a la glucosa y empeorar el control glucémico en personas con diabetes.²⁰ Sin embargo, la causa de tal interrelación no está completamente entendida. La diabetes mellitus se caracteriza por la hiperglucemia. Curiosamente, la glucosa ha demostrado que estimula la actividad de la NADPH oxidasa, esta es la enzima clave implicada con el estallido respiratorio en los monocitos y macrófagos. Esta génesis de especies reactivas de oxígeno a través del estallido respiratorio inducida por glucosa es contrario a la estrategia de supervivencia de *Mycobacterium tuberculosis* como un patógeno intracelular en las células fagocíticas.²¹

En un modelo animal diabético, los macrófagos peritoneales mostraron un aumento en la actividad de la actividad de la NADPH oxidasa en comparación con

los controles normales.²² Por lo tanto se espera que en el estado diabético; más patógenos intracelulares serán matados por que la hiperglucemia induce aumento de la actividad de la NADPH oxidasa en la células fagocíticas, y esta actividad es directamente proporcional a la destrucción de las bacterias intracelulares a través de la generación de superóxido en el interior de los fagosomas.²³ Por el contrario, la diabetes mellitus es bien conocida por estar asociada con un aumento de las infecciones en general, y la tuberculosis, en particular. *Mycobacterium tuberculosis*, reside dentro de la célula fagocítica (en particular los macrófagos), en el curso de la patogénesis, si existe un estado hiperglucémico, la actividad de NADPH oxidasa se potencia, por lo tanto la mayor asociación de la diabetes y la tuberculosis resulta ser una paradoja. En un estudio reciente por Banerjee et al²¹ sugieren que existe la posibilidad de que la glucosilación en macrófagos produzca una inhibición de la actividad de la NADPH-oxidasa, que puede dar cuenta de la mayor asociación de la tuberculosis en un estado diabético. Sin embargo, esta hipótesis no ha sido verificada experimentalmente hasta el momento.

En cuanto a las bases inmunológicas de esta relación el fenómeno no es entendido claramente, se sabe que el papel de la inmunidad mediada por células T y macrófagos juega el papel principal en la protección contra la tuberculosis. En los pacientes con diabetes se ha demostrado que presentan inmunidad celular deprimida, evidenciado por una disminución en el número de células T y de su capacidad de proliferar in vitro en respuesta a estímulos antigénicos, igualmente se encuentra comprometida la función de los macrófagos.^{24,25}

Diversos aspectos de la inmunidad se encuentran alterados en los pacientes con DM tipo 2. La inmunidad celular innata parece ser la más afectada.²⁶

La inmunidad celular adaptativa afectada en los pacientes diabéticos, con una disminución de la respuesta proliferativa linfocítica a estímulos y a algunos patógenos.²⁷ El TNF α es un mediador crucial en el proceso de resistencia a la insulina, esta citocina está producida principalmente por los macrófagos, y se considera el principal mediador entre inflamación, obesidad y desarrollo de DM tipo2^{28,29}

Algunos estudios han demostrado que la hiperglicemia altera las capacidades fagocíticas de los leucocitos polimorfonucleares.^{30,31} Estas disfunciones celulares se corrigen cuando se logra mejor control de la diabetes. Existen pocos estudios sobre las alteraciones inmunológicas en pacientes en los que coexiste tuberculosis y diabetes. En la mayoría de los estudios se ha encontrado que los pacientes con tuberculosis y diabetes tienen activación disminuida de los macrófagos alveolares,⁶ y niveles más bajos de producción de IFN- γ por linfocitos T CD4+ que los pacientes no-Diabéticos, alteraciones que se normalizaron después del tratamiento para tuberculosis.³² Lo cual pudiera indicar que estas deficiencias precedieron a la tuberculosis. Sin embargo hay otro estudio que demuestra exactamente lo contrario, es decir niveles incrementados de IFN- γ en sujetos con tuberculosis y diabetes.⁵

Un estudio longitudinal que compara la producción de IFN- γ en pacientes con tuberculosis y diabetes en buen control y con mal control, demostró que hay disminución en la producción de IFN- γ en los pacientes con diabetes mal controlada y tuberculosis, comparada con los diabéticos en buen control y con tuberculosis. Estos resultados sugieren que dicha disminución no se debe a la tuberculosis per se, sin más bien a un defecto intrínseco generado por el mal control glucémico.⁶

En ratones diabéticos expuestos a una dosis pequeña de *Mycobacterium tuberculosis* virulento por vía inhalada, se demostró que los linfocitos T específicos productores de IFN- γ , llegan retrasados a los ganglios linfáticos comparado con los ratones controles. Así mismo, el reclutamiento de estas células en el pulmón y su capacidad de respuesta dependiente de IFN- γ , igualmente está retrasada, lo anterior debido a la disminución de niveles de quimiocinas CCL2 y CCL5.³³

También se ha demostrado que los ratones con hiperglucemia crónica presentan un retraso en la iniciación de la respuesta inmune adaptativa que se traduce en una disminución de la producción temprana de IFN- γ , resultando en una carga bacilar elevada de MTB en el pulmón.³⁴

En conclusión existe evidencia de que la mayor susceptibilidad de los pacientes con diabetes a la tuberculosis tiene su explicación en deficiencias de la inmunidad

innata y adquirida, las cuales son más acentuadas cuando la diabetes está mal controlada. No se conoce con exactitud como es el comportamiento de la respuesta inmune innata en este grupo de pacientes.

JUSTIFICACIÓN

Con este trabajo esperamos identificar diferencias en la respuesta inflamatoria a *M. tuberculosis* en pacientes diabéticos, y algún predictor de diferencias en hiperglicemia crónica. Los resultados servirán de base para estudios a futuro enfocados a las vías específicas de la respuesta inmune, el objetivo final será colaborar al entendimiento preciso de los mecanismos celulares y moleculares en la asociación de diabetes y tuberculosis.

OBJETIVOS

Comparar los niveles de biomarcadores de inflamación como proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, albúmina, deshidrogenasa láctica y la producción de citocinas intracelulares ($TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL-12, IL-10) en respuesta a antígenos micobacterianos en pacientes con tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente (TBPCB) y diabetes con TBPCB sin diabetes.

Evaluar los niveles de biomarcadores de inflamación como proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, albúmina, deshidrogenasa láctica y la producción de citocinas intracelulares ($TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL-12, IL-10) en respuesta a antígenos micobacterianos en pacientes con tuberculosis pulmonar y diabetes tipo 2 de acuerdo a sus niveles de glucosa sérica.

MATERIAL Y METODOS

Diseño, pacientes, lugar y período de estudio.

Estudio prospectivo transversal de pacientes consecutivos con diagnóstico de Tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente (TBPCB) y diabetes mellitus tipo 2 y pacientes con TBPCB sin diabetes tipo 2, de Marzo 2012 a Junio 2013 en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Criterios de selección de los pacientes.

Criterios de inclusión para pacientes:

1. Pacientes con tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente mediante baciloscopia y/o cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis*, con diabetes tipo 2 y sin diabetes tipo 2
2. De reciente diagnóstico (no más de un mes).
3. Que acepten participar y firmen la hoja de consentimiento informado
4. De 20 años de edad en adelante.

Criterios de exclusión para pacientes:

1. Pacientes con tabaquismo activo.
2. Pacientes con antecedentes de tabaquismo activo al momento del estudio de menos de 3 meses, así como presentar un índice tabáquico de riesgo para enfermedad pulmonar obstructiva crónica (mayor o igual a 10)
4. Cualquier comorbilidad asociada que ocasione expresión de las citocinas en estudio: neumopatía intersticial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o asma.
5. Tuberculosis por *Mycobacterias* no tuberculosas.
6. Cualquier tipo de tuberculosis extrapulmonar.
7. Coinfección por VIH.

Tamaño de muestra:

- 40 Pacientes con tuberculosis pulmonar activa diabetes tipo 2.
- 41 pacientes con tuberculosis pulmonar activa sin diabetes.

No se realizó cálculo de tamaño de muestra, el número es por la factibilidad del reclutamiento durante el período de estudio propuesto.

Los pacientes fueron reclutados de la clínica de tuberculosis tanto de hospitalización como de la consulta externa. Se les invitó a participar y se les explicaron los objetivos del estudio. Se les aplicó un cuestionario estandarizado para medir las variables sociodemográficas, clínicas y de laboratorio.

El muestreo fue no aleatorio y por conveniencia, los pacientes se invitaron a participar el estudio e ingresaron al mismo en forma consecutiva.

Todos los pacientes recibieron el tratamiento antituberculosis acorde al programa nacional de tuberculosis y la Norma Oficial Mexicana para el tratamiento de la tuberculosis.³⁵

Se pretende estudiar a 30 pacientes con tuberculosis pulmonar comprobada bacteriológicamente (TBPCB) y con diabetes tipo 2 y 30 pacientes con TBPCB sin diabetes.

DEFINICIONES

Diabetes tipo 2

- Se consideró diabetes si el paciente cuenta con al menos uno de los siguientes criterios:
- Hiperglucemia definida por un valor de glucosa sérica en ayuno ≥ 126 mg/dl.
- El paciente proporcione el antecedente de diabetes en su historia clínica y/o al momento del ingreso refirió recibir o se trata con hipoglucemiantes orales. O pacientes que no reportaron diabetes, pero tuvieron hiperglucemia al momento del diagnóstico. En concordancia con las guías nacionales³⁶ y tomando en cuenta la edad, estimamos que al menos el 95% de estos casos tienen diabetes tipo 2.

VARIABLES A ESTUDIAR

Los biomarcadores de inflamación medido fueron la proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, deshidrogenasa láctica y albúmina. Las mediciones fueron automatizadas por el laboratorio clínico del INER.

Las determinaciones de glucosa (glucosa oxidasa), albumina (método digital biocromático), LDH (cinético enzimático), se realizaron en equipo automatizado **Unicel Beckman Coulter Dxc800**, corriendo a la par con controles de calidad niveles I,II y III de Beckman Coulter. La PCR se determinó por el método de Nefelometría con el equipo **IMAGE de Beckman Coulter** con sus respectivos controles y se reporta en mg/dL. La VSG se realizó con el método tradicional, utilizando el tubo de WINTROBE, se llena con sangre con anticoagulante (EDTA), hasta la marca y se deja reposar por 60 minutos, el resultado se reporta en mm. Las mediciones de estos biomarcadores se realizó al momento del ingreso del paciente al estudio.

La medición de la expresión de $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, IL-12, IL-10 en células de sangre periférica mediante el siguiente procedimiento.

Obtención de células mononucleadas. A partir de 20 ml de sangre venosa, las células mononucleadas son separadas mediante una centrifugación a 1,700 rpm en un gradiente de Ficoll-hypaque (1.077 de densidad) durante 30 minutos a 8°C. Posteriormente se colectan las células de la interfase, se lavan en solución amortiguadora salino fosfato (PBS), se centrifugan a 1,100 rpm durante 10 minutos, decantar sobrenadante, realizar un segundo lavado en las mismas condiciones.

Finalmente las células mononucleadas son cuantificadas en un hemocitómetro y la viabilidad celular es valorada por el método de exclusión del colorante azul de tripano.

Moléculas intracelulares. Para la determinación de citocinas intracelulares en linfocitos T CD4+, se utilizan anticuerpos monoclonales anti-CD4 y anti-CD3 para demostrar que la población es linfocitos T CD4+ además de los anticuerpos para citocinas intracelulares anti- $IFN\gamma$, anti- $TNF\alpha$, anti-IL12 y anti-IL10 así como sus respectivos controles de isotipo.

Una vez aisladas las células mononucleadas se resuspenden en medio de cultivo RPMI 1640 complementado con suero fetal bovino para realizar la determinación de citocinas intracelulares, cabe mencionar que se realizarán determinaciones basales (sin estímulo) y otras con estímulo de acetato miristato de forbol mas ionomicina (PMA-IO) en presencia de brefeldin-A durante 4 horas a 37 °C en un ambiente de CO₂. Una vez que obtenemos las células (con o sin estímulo) se fijan en *p*-formaldehído al 4%, posteriormente se permeabilizan con una solución de saponina (0.1% saponina, 0.01% IgG de cerdo, 10 mM HEPES, 10% BSA en PBS) dejándose en agitación continua durante 10 min. Posteriormente, las células se incuban con anticuerpos monoclonales contra las moléculas previamente mencionadas. Después de la incubación, las células se lavan con saponina al 0.1% en PBS y se analizan mediante citometría de flujo.

Antígeno de la micobacteria. El antígeno que se usará en este proyecto será obtenido del sobrenadante de 28 días de cultivo de la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*. Se cuantificará el contenido proteico y se hará un análisis electroforético en geles de poliacrilamida siguiendo el método de Laemmli.

Citometría de flujo. Se hace un lavado inicial con PBA, posteriormente las células se resuspenden en la solución salina para el citómetro (FACS). Las células se analizan en un citómetro Becton & Dickinson con software Cell Quest. Luego de obtener 10,000 células se diseña una gráfica de tamaño contra granularidad, en la cual se limita la región de linfocitos. Se realiza una triple inmunofluorescencia; de las células positivas a CD4 y CD3 se hace una segunda región para determinar de esa región el porcentaje de células positivas a la citocina intracelular.

La expresión de cada uno de los biomarcadores se medirá en porcentaje de expresión.

Variables de desenlace

Niveles de biomarcadores de inflamación (proteína c reactiva, velocidad de sedimentación globular, albúmina y deshidrogenasa láctica) y citocinas (TNF α , IFN γ , IL-12, IL-10)

Variables independientes

El estatus de diabetes niveles de glucosa sérica, sociodemográficas, características clínicas (comorbilidad, síntomas, tiempo de padecimiento), obesidad (IMC >30 Kg/m²) y desnutrición (IMC < 18.5 Kg/m² para mujeres y para hombres < 20 Kg/m²)

En los diabéticos: historia de diabetes: Edad de inicio de la diabetes, años con diabetes, glucemia, tipo de tratamiento. Complicaciones de la diabetes (neuropatía, nefropatía, retinopatía, insuficiencia arterial de miembros inferiores, etc).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas se expresaron en promedio y desviación estándar o mediana (intervalo intercuartil). Las comparaciones entre dos grupos se realizó con estadística paramétrica (prueba de T) o no paramétrica (U-Mann Whitney) de acuerdo a la distribución de las variables. Las diferencias se evaluaron entre los participantes con respecto a la diabetes y sus niveles de glucosa serica.

Para la comparación de frecuencias utilizamos la prueba de chi².

Se realizó análisis de correlación de Spearman entre los niveles de los biomarcadores (de inflamación y citocinas) y los niveles de glucemia.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El formato de Consentimiento Informado contiene la información precisa explicando los objetivos del estudio, beneficios al paciente, y sus derechos, todo de acuerdo a la ley General de Salud en materia de investigación y está

autorizado por la Comisión de Ética del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Este formato fue firmado por el participante, previa lectura y explicación del mismo por parte de los investigadores responsables del proyecto, además por dos testigos. La firma de este formato, fue obtenida por el investigador responsable del estudio en el momento de que el participante fue elegible para el estudio y previo a su reclutamiento.

Únicamente se incluyeron en el estudio a personas que hayan firmado la carta de consentimiento informado.

Los criterios de ingreso al estudio son independientes del sexo, etnicidad, y nivel socioeconómico, asegurando la inclusión de mujeres y grupos indígenas.

Todos los resultados fueron manejados para garantizar la protección de los derechos individuales y mantener la confidencialidad. A los pacientes con una prueba de VIH positiva se les daría consejería antes y después del resultado y serían referidos al servicio local de salud para su manejo.

Confidencialidad.- Todos los registros fueron guardados en un lugar seguro. Debido a la naturaleza de los datos el mantener la confidencialidad de la información clínica (incluye pero no se limita a los resultados de VIH) es una alta prioridad. Los cuestionarios estuvieron colocados en estantes accesibles solo a personal seleccionado. Los archivos computarizados tienen únicamente códigos de identificación, las claves solo son accesibles para los investigadores. Todos los reportes y publicaciones hacen referencia únicamente a datos agrupados.

La atención médica para los participantes en el estudio será proporcionada por los investigadores responsables del estudio.

RESULTADOS

En el periodo comprendido de marzo 2012 al junio 2013 se incluyeron 81 pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar bacteriológicamente comprobada con criterios de inclusión para este estudio, de los cuales 41 (50.62%) correspondieron al sexo masculino y 40 (49.38%) al sexo femenino. El antecedente de diabetes mellitus tipo 2 en 40 de ellos representando el 49.38% de la población estudiada. La edad promedio fue de 45 años, de los cuales 31 (38.27%) pacientes eran mayores de 50 años.

El lugar de residencia de 36 (44.44%) pacientes fue el distrito Federal y de 34 (41.98%) pacientes el Estado de México.

En cuanto a las ocupaciones, 30 pacientes (37.03%) eran prestadores de servicios, 21 pacientes (25.93%) se dedicaban al hogar, 9 (11.11%) fueron desempleados, 7(8.64%) comerciantes, 5 (6.17%) estudiantes, 4 (4.95%) campesinos, 3 (3.70%) profesionista y 2 (2.47) jubilados. (Cuadro 1)

Respecto a los antecedentes y comorbilidades, 28 pacientes tenían antecedente de tabaquismo, 20 (25.32%) de ellos inactivo y 8 (9.88%) activo. Presentado una mediana (IIC) de índice tabáquico de 1.7 (1.2-4.5) paquetes-año. El antecedente de alcoholismo estuvo presente el 18 (22.22%) pacientes. La exposición a humo de leña en 24 (29.63%), con una mediana (IIC) de índice de exposición a humo de leña de 46.5 (21-175) horas- año.

El 52.32% presentaba alguna comorbilidad, como diabetes 40 (49.38%), hipertensión arterial en 7 pacientes (8.64%) con una median (IIC) del tiempo de evolución de 10 años (3-20).

Con base en el índice de masa corporal, el cual fue medido en 73 pacientes del total del grupo estudiado, el 31.51 % presento desnutrición, 17% sobrepeso y 2.74% obesidad. (Cuadro 2)

En el cuadro 3 se presentan las características de las manifestaciones clínicas, la mediana (IIC) de tiempo del padecimiento fue de 150 (60-270) días en la población estudiada. En el grupo de pacientes con diabetes fue de 165 días y en el grupo sin diabetes de 150 días.

En la población total estudiada los 4 síntomas más frecuentes fueron tos 78 (96.30%), expectoración 70 (86.42%), pérdida de peso 66 (81.48%) y fiebre 63 (77.78%). En el grupo con diabetes mellitus los síntomas más frecuentes fueron tos 40 (100%), pérdida de peso 37 (92.50%), expectoración 34 (85%) y fiebre 31 (77.5%). En el grupo sin diabetes fueron tos 38 (92.68%), expectoración 36 (87.80%), disnea 33 (80.49%) y fiebre 32 (78.05%). La hemoptisis se presentó en 23 pacientes (29.6%) de la población total, 11 pacientes en el grupo sin diabetes y 13 en el grupo con diabetes.

En cuanto a las características de la exploración física de la población total estudiada tuvieron frecuencia cardíaca una mediana (IIC) de 88 (80-100) lxm, taquicardia (>90 lxm) 31 (38.28%), taquicardia (>110 lxm), 9 (11.11%), la mediana (IIC) de la frecuencia respiratoria 22 (20-24) xmin, taquipnea (>20 rxm) se encontró en 44 pacientes (54.32%). La saturación de oxígeno fue medida en 77 pacientes 15 (19.48%) de ellos presentaron desaturación ($\text{SatO}_2 < 90\%$). (cuadro 3)

Las características de laboratorio fueron en la población total estudiada: una mediana (IIC) de leucocitos $8,400/\text{mm}^3$ (6,400-12,400), con leucocitosis ($>12,000/\text{mm}^3$) en 24 (29.63%) pacientes, leucopenia en 3 (3.7%) pacientes. Con una mediana (IIC) de neutrófilos totales de $5,900/\text{mm}^3$ (4,100- 9,800), neutrofilia ($> 7,500/\text{mm}^3$) en 31 (38.27%) pacientes, linfopenia 16(19.75%) pacientes y anemia en 24 (29.63%) pacientes.

En el grupo con diabetes la mediana de leucocitos fue $8,600/\text{mm}^3$, 13 (32.50%) pacientes presentaron leucocitosis y 2 (5%) pacientes leucopenia. La mediana de neutrófilos totales fue $6,300/\text{mm}^3$, con neutrofilia en 15 (37.5%) pacientes, linfopenia en 8 (20%) y anemia en 14 (35%) pacientes.

En el grupo sin diabetes la mediana de leucocitos fue de 8,300/mm³, 11 (26.83%) pacientes presentaron leucocitosis y 1 (2.44%) leucopenia. La mediana (IIC) de neutrófilos totales 5,700/mm³ con neutrofilia en 16 (30.02%) pacientes, linfopenia en 8 (10.51%) y anemia en 10 (24.39%) pacientes. (Cuadro 4)

El número de cruces de la baciloscopia en la población total estudiada fue de 0 cruces en 2 (2.47 %) pacientes, una cruz en 15 (18.58%) pacientes, dos cruces en 20 (24%) pacientes, tres cruces en 20 (24.69%) pacientes y cuatro cruces en 24 (29.63%) pacientes.

En el grupo con diabetes fue de 0 cruces en 2 (5 %) pacientes, una cruz en 15 (12.50%) pacientes, dos cruces en 10 (25%)pacientes, tres cruces en 10 (25%) pacientes y cuatro cruces en 13 (32.5%) pacientes y en el grupo sin diabetes fue de 0 cruces en 2 (5%) pacientes, una cruz en 15 (12.50%) pacientes, dos cruces en 10 (25%) pacientes, tres cruces en 10 (25%) pacientes y cuatro cruces en 13 (32.5%) pacientes (Cuadro 5)

La albumina fue medida solo en 78 pacientes (37 en el grupo con diabetes y 41 en el grupo sin diabetes) la mediana (IIC) fue de 3.16 (2.6-3.8) gr/dl

En el grupo con diabetes la mediana (IIC) fue de 3.14 (2.57-3.76) gr/dl y en el grupo sin diabetes de 3.2 (2.7 - 3.88) gr/dl. En 45 pacientes se identificó hipalbuminemia, 23 (62.16%) en el grupo con diabetes y 22 (53.66%) en el grupo sin diabetes. (Cuadro 5)

La velocidad de sedimentación globular medida en 70 pacientes (34 en el grupo con diabetes y 36 en el grupo sin diabetes), la mediana (ICC) fue de 27 (17-34) mm/h en el grupo con diabetes y 22 (9.5- 28) mm/h en el grupo sin diabetes. VSG mayor a 20 mm/h se observó en 25 (73.53 %) pacientes en el grupo con diabetes y 21 (58.33%) pacientes en el grupo sin diabetes.

La mediana (IIC) de la proteína C reactiva (PCR) en la población total estudiada fue de 5.68 (2.44-11.6) mg/dl. La PCR mayor de 20 mg/dl se presentó en 37

(92.5%) pacientes del grupo sin diabetes y 40 (97.56%) pacientes del grupo con diabetes.

La mediana (IIC) de lactato deshidrogenasa (LDH) medida en 78 pacientes (38 en el grupo con diabetes y 40 en el grupo sin diabetes) fue de 166.5 (142 - 248) UI/L. Se encontró DHL elevada en 15 (39.47%) pacientes del grupo sin diabetes y en 13 (32.50%) pacientes en el grupo con diabetes. (Cuadro 5)

Los niveles de biomarcadores inmunológicos fueron medidos en 20 pacientes, 8 en el grupo con diabetes y 12 en el grupo sin diabetes. La IL-10/CD3 la mediana (IIC) fue de 5.78 (0.99 -17.59), IL-12/CD3 la mediana fue de 2.99 (0.79-7.96). La mediana de los niveles de TNF/CD3 fueron de 3.10 (0.61-5.65), INF/CD3 de 4.68 (1.51-13.18)

En el grupo con diabetes la mediana de la IL-10/CD3 fueron de 3.77 (0.98 - 6.59), de la IL-12/CD3 fue 3.42 (2.24 -11.98), TNF de 7.35 (3.44-15.26), INF de 4.68 (1.51-13.18), IL-12/CD8 de 4.98 (4.5 -5.11), y del INF/CD8 de 10.8 (4.3-13.8)

En el grupo sin diabetes la mediana de IL-10/CD3 fue de 8.10 (1.92 -19.54), de la IL-12/CD3 fue de 2.73 (0.65 - 7.90), del TNF/CD3 de 4.36 (1.68-10.34), INF/CD3 de 4.39 (1.13-13.18), IL-12/CD8 de 5.71 (2.32 - 11), y del INF/CD8 de 7.78 (1.98-16.6) (Cuadro 6)

La correlación entre la velocidad de sedimentación globular y los niveles de glucosa sérica correspondieron a $r=0.2551$ con una $p<0.05$ (Gráfica 1), entre los niveles de proteína c reactiva y los niveles de glucosa sérica $r=0.0126$ con una $p>0.05$ (Gráfica 2), entre la velocidad de sedimentación globular y los niveles de glucosa sérica $r=0.2551$ con una $p>0.05$ (Gráfica 3), entre los niveles de lactato deshidrogenasa y glucosa sérica $r=0.0368$ con una $p>0.05$ (Gráfica 4), entre los niveles de albumina y glucosa sérica $r=0.2250$ y una $p>0.05$ (Gráfica 5).

DISCUSIÓN

Como se ha estudiado a lo largo de décadas, existe una asociación frecuente entre la diabetes mellitus y la tuberculosis pulmonar, sin embargo las razones de esta correlación hasta el día de hoy no se conocen con exactitud, he ahí el motivo del presente estudio.¹⁵

Se incluyeron a 81 pacientes, 40 en el grupo de tuberculosis sin DM y 41 en el grupo de tuberculosis con DM. El 38.47% del total de la población estudiada eran mayores de 50 años. Ambos grupos fueron heterogéneos en relación a los antecedentes de exposición, características de las manifestaciones clínicas y de la exploración física, sólo encontramos diferencias estadísticamente significativa en cuanto a la pérdida de peso para el grupo con DM se presento en el 92% y 29% en el grupo sin DM con una $p < 0.05$, y en relación a la taquipnea (>20 rxm) en el 40% de los pacientes del grupo con DM y 28% en el grupo sin DM con una $p < 0.05$.

Se ha establecido que la DM2 cursa con un estado inflamatorio crónico de bajo grado, como consecuencia del incremento en la masa del tejido adiposo y la producción de citocinas proinflamatorias. Las más estudiadas han sido los macrófagos y monocitos, pero también se ha reportado la participación de otras células, tales como neutrófilos, mastocitos, eosinófilos, células dendríticas y natural killer (NK).³⁷

En cuanto al sistema inmune en la tuberculosis sabemos que *Mycobacterium tuberculosis* inhibe la apoptosis y la necrosis de los macrófagos para evadir la inmunidad innata y retrasar la iniciación de la inmunidad adaptativa.³⁸ La respuesta inmune innata protege a algunos individuos de la infección, sin embargo en otros, el sistema inmune innato no es suficiente y se genera una respuesta inmune adaptativa. Esto es por lo general de protección, pero no de esterilización, y los individuos permanecen con infección latente.³⁹ En individuos susceptibles, *Mycobacterium tuberculosis* se escapa con éxito a la vigilancia inmune. La interacción entre el huésped, la respuesta innata y los mecanismos bacterianos son de considerable importancia para dictar el curso de la enfermedad.⁴⁰

Con respecto a esto existen múltiples estudios que indican que el tratamiento contra la tuberculosis en pacientes con diabetes puede tener pobres resultados.^{41,42}

Las bases inmunológicas de la relación no se conocen del todo. Los macrófagos se han clasificado en dos categorías basados en el perfil de citocinas que liberan. Los macrófagos M1, que son activados clásicamente y producen TNF- α e IL-6, ambas citocinas proinflamatorias y los macrófagos M2, activados alternativamente los cuales liberan citocinas antiinflamatorias como IL-10 y factor de crecimiento transformante β (TGF- β). Los macrófagos M1 son estimulados por INF- γ y LPS mientras que los macrófagos tipo 2 por la IL-4 e IL-13.^{43, 44}

Se ha establecido firmemente que las citocinas tiene un papel importante en la determinación del resultado de la infección con los patógenos intracelulares, uno de ellos *M. tuberculosis*.⁴⁵

La evidencia de deriva de estudios experimentales y observacionales en pacientes con deficiencias genéticas o inducida por fármacos en sus citocinas o en vías de señalización. Destacan el TNF- α y el IFN- γ en la las funciones de señalización de las cuales la resistencia del huésped a *Mycobacterium tuberculosis* ha sido bien documentado, tanto en modelos de ratón como en seres humanos.⁴⁶

Las citocinas tienen un papel importante en la respuesta inmune adaptativa, tanto como efectores y reguladores, y su perfil de expresión en células T CD4 + delinea claramente que la respuesta de tipo Th1 es dominante y se asocia con el control. Las citocinas son producidas por las células del sistema inmune innato y actúan tanto en la fase temprana de la infección para iniciar la respuesta inmune como en etapas tardías para mantenerla y regularla.³⁹

En nuestro estudio analizamos la producción de IL-10, IL-12, INF- γ e TNF- α , en el grupo de pacientes con tuberculosis y en el grupo de pacientes con tuberculosis y DM. Una de las limitaciones de nuestros resultados es que estas mediciones se realizaron en 8 pacientes en el grupo con diabetes y 12 pacientes en el grupo sin DM, con un valor de $p > 0.05$, sin embargo nuestros resultados arrojan datos muy

interesantes con respecto a la respuesta inmune en los pacientes con DM y tuberculosis, en los estudios publicados se ha determinado que la producción de INF- γ se encuentra deprimida en los pacientes con TB y DM.

Partiendo de la premisa que la inmunidad innata se encuentra alterada en los pacientes con diabetes mellitus lo cual les hace susceptibles de infecciones y dentro de ellas la tuberculosis; se ha estudiado como es la expresión de citocinas en estos pacientes, sin embargo son pocos los estudios y los resultados en algunos de ellos son contradictorios, por ejemplo, Tsukaguchi K, et al ⁴⁷ (1997) midieron los niveles de INF- γ , IL-12, IL-10 en monocitos de pacientes con TB pulmonar con y sin diabetes mellitus, comparándolos con controles sanos. Encontraron que los niveles de INF- γ , IL-12, fueron significativamente más bajos en el grupo con Tuberculosis que en el grupo control. La producción de citocinas fue significativamente más baja en el grupo de TB y DM, que el grupo con TB. La IL-10 entre los tres grupos los niveles más altos se encontraron en el grupo de TB, esta citocina fue más baja en los pacientes con TB y DM, los niveles de INF- γ fueron significativamente más bajos en pacientes con DM y TB y pobre control que en aquellos bajo un buen control de la diabetes. Concluyendo que los mecanismos inmunológicos podrían trabajar diferente entre estas dos patologías

Existen otros estudios que confirman esta asociación Fross-Freitas, et al ⁴⁸ en el 2007 estudiaron la producción de INF- γ e IL-10 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con DM tipo 1 y DM tipo2, reportando que la producción de INF- γ fue más bajo en el grupo con DM tipo 2 comparada con el grupo de DM tipo 1. El INF- γ y la IL-10 tienden a aumentar en células mononucleares periféricas en ambos tipos de diabetes cuando están en buen control. Sugiriendo que el adecuado control mejora la capacidad de mantenimiento de las respuesta inmune reduciendo la susceptibilidad a las infecciones.

Los niveles de IL-10 en nuestro estudio concuerdan con los estudios antes mencionados, encontramos una tendencia hacia niveles mayores en el grupo sin diabetes.

Tsukaguchi K et al (2002) ⁶, realizaron un estudio longitudinal para definir los mecanismos inmunopatológicos que subyacen a la tuberculosis pulmonar en pacientes con DM, midieron la producción de IFN- γ por células T CD4 +, seguidos longitudinalmente durante el tratamiento antituberculosis. Se midió al momento del diagnóstico la producción de IFN- γ en un grupo de pacientes con tuberculosis y otro con tuberculosis y DM, en este último el INF- γ fue significativamente más bajo en el grupo con pobre control en comparación con los que tenían buen control de la diabetes. En el seguimiento de la producción de IFN- γ volvió al nivel de control a los 6 meses de tratamiento en el grupo de DM con buen control, y se mantuvo deprimida en los pacientes con pobre control. Estos resultados sugieren que dicha disminución no se debe a la tuberculosis per se, sino más bien a un defecto intrínseco generado por el mal control glucémico.

Con respecto a los resultados de nuestro estudio encontramos una tendencia hacia niveles más elevados de INF- γ en pacientes con TB+DM que en pacientes solo con tuberculosis, como también fue observado por Restrepo BI, et al ⁵ en el 2008 quienes reportaron elevación de los niveles de INF- γ en presencia de hiperglucemia.

Con respecto a los niveles de TNF- α los resultados de nuestro estudios fueron similares a los realizados previamente, una tendencia a encontrar niveles más bajos de TNF- α en el grupo con diabetes, lo cual concuerda con el estudio de Tsukaguchik. Et al .⁴⁹ En el cual reporta que la producción de IL-1, TNF- α , e IL-6 fueron más altos en pacientes con tuberculosis que el grupo control. La producción de IL-1, TNF- α , e IL-6 fue más bajo en el grupo de pacientes con TB+DM que el observado en pacientes solo con TB, y a su vez más bajo en el grupo con pobre control de la DM; encontraron una correlación inversa entre los niveles de Hb A1c y TNF-a en los pacientes con Tb y DM. Este estudio demostró que la producción de citocinas se encuentra alterada en pacientes con TB+DM y sugiere una estrecha correlación entre la inmunidad de la tuberculosis y la diabetes mellitus.

También se han realizados estudios in vitro que demuestran que el buen control glucémico mejora la producción de esta citocinas.⁵⁰

En nuestro estudio encontramos una correlación baja pero significativa entre los niveles de glucosa sérica y velocidad de sedimentación globular, con en el resto de los marcadores de inflamación no encontramos correlación. Estos resultados pueden ser debidos al tamaño de la muestra.

CONCLUSION

Existe una compleja interrelación entre la DM y TB, se demuestra que el perfil de citocinas es variable, en especial el INF- γ resulto estar elevado en los pacientes con TB y DM. Estos datos proporcionan la base para otros estudios centrados en vías específicas y tener una mejor comprensión de los eventos celulares y moleculares que subyacen a la asociación entre estas dos patologías.

BIBLIOGRAFIA

1. Restrepo BI. Convergence of the tuberculosis and diabetes epidemics: renewal of old acquaintances. *Clin Infect Dis* 2007; 45:436-8.
2. Bailey SL, Grant P. "The tubercular diabetic": the impact of diabetes mellitus on tuberculosis and its threat to global tuberculosis control *Clin Med*. 2011 Aug;11(4):344-7.
3. Donnelly R, Emslie-Smith AM. ABC of vascular disease: Vascular complications of diabetes. *BMJ* 2000; 320:1062.
4. Rosenzweig SD, Holland SM. Defects in the interferon-gamma and interleukin-12 pathways. *Immunol Rev* 2005; 203:38-47
5. Restrepo BI, Fisher-Hoch s, Pino P. Tuberculosis in Poorly Controlled Type 2 Diabetes: Altered Cytokine Expression in Peripheral White Blood Cells *Clin Infect Dis*. 2008 September 1; 47(5): 634–641.
6. Tsukaguchi K, Okamura H, Matsuzawa K, et al. Longitudinal assessment of IFN-gamma production in patients with pulmonary tuberculosis complicated with diabetes mellitus. Resumen. *Kekkaku* 2002; 77:409-13
7. World Health Organization Global Tuberculosis Control: WHO Report. 2012. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2012/en/index.html
8. Dooley K. E, Chaisson R. Tuberculosis and diabetes mellitus: convergence of two epidemics. *Lancet Infect Dis*. 2009 December ; 9(12): 737–746.
9. Wild S, Roglic G, Green A. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 21:1047-1053.
10. Echouffo-Tcheugui JB, Dagogo-Jack S. Preventing diabetes mellitus in developing countries. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8: 557- 562.
11. Lopez D, Malgarejo-Hernandez A. La diabetes tipo 2 y la tuberculosis en México: la confluencia de dos retos para el sistema de salud. *Acta Medica Grupo Ángeles* 2012;10: 189-195.
12. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21:1414-31

13. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
14. Dirección General de Epidemiología. Panorama Epidemiológico 2000-2012. *Tuber* 2011; 1 (10).
15. Root H. The association of diabetes and tuberculosis. *N Engl J Med* 1934;210:1, 78, 127.
16. Jeon CY, Murray MB. Murray. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*. 2008 Jul
17. Alisjahbana B, Van Crevel R, Sahiratmadja E, den Heijer M, Maya A, et al. Diabetes mellitus is strongly associated with tuberculosis in Indonesia. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 696–700.
18. Perez A, Brown HS 3rd, Restrepo BI. Association between tuberculosis and diabetes in the Mexican border and non-border regions of Texas. *Am J Trop Med Hyg* 2006;74: 604–611.
19. Ponce-De-Leon A, Garcia-Garcia Md Mde L, Garcia-Sancho MC, Gomez-Perez FJ, Valdespino-Gomez JL, et al. Tuberculosis and diabetes in southern Mexico. *Diabetes Care* (2004); 27: 1584–1590.
20. Ruslami R, Aarnoutse RE, Alisjahbana B, van der Ven AJ, van Crevel R. Implications of the global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care. *Trop Med Int Health*. 2010 Nov;15(11):1289-99
21. Banerjee D, Bhattacharyya R, Kaul D. Diabetes and tuberculosis: analysis of a paradox. *Adv Clin Chem*. 2011;53:139-53.
22. Hayek T, Kaplan M, Kerry R, Aviram M. Macrophage NADPH oxidase activation, impaired cholesterol fluxes and increased cholesterol biosynthesis in diabetic mice: a stimulatory role for D-glucose. *Atherosclerosis* 2007; 19:277-86.
23. Banerjee D, Sharma P. Dual effect of glucose on macrophage NADPH oxidase activity: a possible link between diabetes and tuberculosis. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2012; 1(2): 91-96

24. Leun CC, Lam TH, Chan WM., Yew WW., Ho KS, Leung GM, Law WS, Tam CM, Chan CK, Chang KC. Diabetic control and risk of tuberculosis: a cohort study. *Am J Epidemiol* 2008; 167:1486-94.
25. Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, Hwang DH, Jialal I. High glucose induces toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation. *Diabetes* 2008; 57:3090-8.
26. Di Penta Jennifer M. Type 2 diabetes mellitus, resistance training, and innate immunity. Is there a common link? *Appl. Physiol. Nutr. Metab* 2007;32: 1025-1035
27. Fernández-Real JM, Pickup JC. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2008 Jan;19(1):10-6
28. Saiki O, Negoro S, Tsuyuguchi I, Yamamura Y. Depressed immunological defence mechanisms in mice with experimentally induced diabetes. *Infect Immun* 1980; 28:127–31.
29. Toussiot, Eric; Streit, Gerald; Wendling, Daniel Infectious complications with anti- TNF α therapy in rheumatic disease: A review. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* 2007;1:39-47
30. MacRury SM, Gemmell CG, Paterson KR, MacCuish AC. Changes in phagocytic function with glycaemic control in diabetic patients. *J Clin Pathol* 1989; 42:1143-1147;.
31. Jakelić J, Kokić S, Hozo I, Maras J, Fabijanić D. Nonspecific immunity in diabetes: hyperglycemia decreases phagocytic activity of leukocytes in diabetic patients. *Med Arh.* 1995;49(1-2):9-12.
32. Mirza S, Hossain M, Mathews C, Martinez P et al. Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF- α , IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: a cross-sectional study. *Cytokine.* 2012 Jan;57(1):136-42. doi: 10.1016/j.cyto.2011.09.029. Epub 2011 Oct 28.
33. Vallerskog T, Martens GW, Kornfeld H. Diabetic mice display a delayed adaptive immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol* 2010; 184:6275-82.
34. Martens GW, Arian MC, Lee J, Ren F, Greiner D, Kornfeld H. Tuberculosis susceptibility of diabetic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37:518-24.

35. Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de la Tuberculosis en la Atención Primaria a la Salud, Nom-006-SSA2-1993
36. Norma Oficial Mexicana, Para La Prevencion, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus, Nom-015-SSA2-2010
37. Guzmán-Flores JM, López-Briones S. Cells of innate and adaptive immunity in type 2 diabetes and obesity. *Gac Med Mex.* 2012 Jul-Aug;148(4):381-9.
38. Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(11):738-49.
39. Cooper , A . M . & Khader , S . A . The role of cytokines in the initiation, expansion, and control of cellular immunity to tuberculosis . *Immunol. Rev.* 226 , 191 – 204 (2008).
40. Behar SM, Martin CJ, Booty MG, T Nishimura et al. Apoptosis is an innate defense function of macrophages against *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol.* 2011 May ; 4(3): 279–287.
41. Jiménez-Corona ME, Cruz-Hervert LP, García-García L, et al. Association of diabetes and tuberculosis: impact on treatment and post-treatment outcomes. *Thorax.* 2013 Mar;68(3):214-20.
42. Baker MA, Harries AD, Jeon CY, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K, Ottmani SE, Goonesekera SD, Murray MB. The impact of diabetes on tuberculosis treatment outcomes: a systematic review. *BMC Med.* 2011 Jul 1;9:81.
43. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol.* 2010;72:219-46.
44. Cooper AM, Mayer-Barber KD, Sher A. Role of innate cytokines in mycobacterial infection. *Mucosal Immunol.* 2011 May;4(3):252-60.
45. Natarajan K, Kundu M, Sharma P, Basu J. Innate immune responses to *M. tuberculosis* infection. *Tuberculosis (Edinb).* 2011 Sep;91(5):427-31
46. Zhang , S . et al. Inborn errors of interferon (IFN)-mediated immunity in humans: insights into the respective roles of IFN-alpha/beta, IFN-gamma, and IFN-lambda in host defense . *Immunol. Rev.* 226 , 29 – 40 (2008).
47. Tsukaguchi K, Okamura H, Ikuno M, Kobayashi A, et al. The relation between diabetes mellitus and IFN-gamma, IL-12 and IL-10 productions by CD4+ alpha

beta T cells and monocytes in patients with pulmonary tuberculosis. *Kekkaku*. 1997;72:617–622.

48. Foss-Freitas MC, Foss NT, Donadi EA, Foss MC. Effect of metabolic control on interferon-gamma and interleukin-10 production by peripheral blood mononuclear cells from type 1 and type 2 diabetic patients. *Braz J Med Biol Res*. 2007 May;40(5):671-7.

49. Tsukaguchi K, Yoneda T, Yoshikawa M, Tokuyama T, et al. Case study of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 production peripheral blood monocytes in patients with diabetes mellitus complicated by pulmonary tuberculosis *Kekkaku*. 1992 Dec;67(12):755-60.

50. Foss-Freitas MC, Foss NT, Donadi EA, Foss MC In vitro TNF-alpha and IL-6 production by adherent peripheral blood mononuclear cells obtained from type 1 and type 2 diabetic patients evaluated according to the metabolic control. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Oct;1079:177-80.

ANEXOS

Cuadro 1. Características generales de los pacientes.

	n = 81
Edad*	45 (30-57)
Hombre n (%)	41 (50.62)
Mujer	40 (49.38)
Mayor de 50 años n(%)	31 (38.27)
Lugar de residencia n(%)	
D.F.	36 (44.44)
Estado de México	34 (41.98)
Otros	11 (13.58)
Ocupación n (%)	
Campesino	4 (4.95)
Desempleado	9 (11.11)
Comerciante	7 (8.64)
Hogar	21 (25.93)
Prestador de servicio	30 (37.03)
Estudiante	5 (6.17)
Profesionista	3 (3.70)
Jubilados	2 (2.47%)

*Mediana (intervalo intercuartil)

Cuadro 2. Antecedentes de exposición y comorbilidades.

		n=81
Tabaquismo	Activo	8 (9.88)
	Inactivo	20 (25.32)
Índice tabáquico^a		1.7 (1.2 – 4.5)
Alcoholismo		18 (22.22)
Exposición humo leña		24 (29.63)
Índice de exposición^a		46.5 (21 – 175)
Uso de drogas ilegales		4 (4.94)
Comorbilidad		44 (54.32)
Diabetes		40 (49.38)
Tiempo de la diabetes (años)^a		9 (7 – 15)
Hipertensión arterial sistémica		7 (8.64%)
Tiempo de la hipertensión (años)^a		10 (3 – 20)
Desnutrición		23/73 (31.51)
Sobrepeso		13/73 (17.81)
Obesidad		2/73 (2.74)

Los datos están expresados en frecuencias y porcentaje, excepto cuando se indique otra forma de resumen de datos.

^aMediana (intervalo intercuartil)

Cuadro 3. Características de las manifestaciones clínicas

Manifestaciones clínicas	Población total n = 81	Con diabetes n = 40 (49.38%)	Sin diabetes n = 41 (50.62%)	Valor de p
Tiempo del padecimiento (días)^a	150 (60 - 270)	165 (90-300)	150 (60-240)	0.1992
Fiebre	63 (77.78)	31 (77.50)	32 (78.05)	0.953
Calosfríos	43(53.09)	21 (52.50)	22 (53.66)	0.917
Tos	78 (96.30)	40 (100)	38 (92.68)	0.081
Expectoración	70 (86.42)	34 (85)	36 (87.80)	0.713
Disnea	60 (74.07)	27 (67.50)	33 (80.49)	0.182
Dolor torácico	25 (30.86)	10 (25)	15 (36.59)	0.259
Hemoptisis	20 (24.69)	11 (27.50)	13 (31.71)	0.678
Pérdida de peso	66 (81.48)	37 (92.50)	29 (70.73)	0.012
Ataque al estado general	39 (48.15)	22 (55)	17 (41.46)	0.223

^a Mediana (intervalo intercuartil 25-75)

Cuadro 4. Características de la exploración física.

	Población total n = 81	Con diabetes n = 40 (49.38%)	Sin diabetes n = 41 (50.62%)	Valor de p
Frecuencia cardíaca ^a	88 (80-100)	87.5 (80-100)	88 (81.99)	0.6944
Frecuencia respiratoria ^a	22 (20-24)	20 (20-24)	24 (20-28)	0.0253
Taquicardia (> 90 lpm)	31 (38.28)	15 (37.50)	16 (39.02)	0.890
Taquicardia (\geq 110 lpm)	9 (11.11)	3 (7.5)	6 (14.63)	0.306
Taquipnea (\geq 20 rpm)	44 (54.32)	16 (40)	28 (68.29)	0.008
Desaturación de oxígeno	15/77 (19.48)	10/38 (26.32)	5/39 (12.82)	0.135
Puntuación de la remodelación pulmonar ^b	10 (4)	10 (3)	9 (4)	0.2125

^a Mediana (intervalo intercuartil 25-75)^b Promedio (DE)

Cuadro 5. Características de laboratorio, baciloscopia y biomarcadores de inflamación .

	Población total n = 81	Con diabetes n = 40 (49.38%)	Sin diabetes n = 41 (50.62%)	Valor de p
Leucocitos totales^a	8400 (6400-12400)	8600 (6350-12450)	8300 (6600-12100)	0.6985
Leucocitosis (Mayor de 12,000)	24 (29.63)	13 (32.50)	11 (26.83)	0.576
Leucopenia	3 (3.70)	2 (5)	1 (2.44)	0.542
Neutrófilos totales^a	5900 (4100-9800)	6300 (4220-10900)	5700 (4009-9000)	0.4031
Porcentaje de neutrófilos^a	73.8 (65.5- 79.2)	73.9 (65.55-825)	73.8 (63.2-78)	0.3400
Neutrofilia	31 (38.27)	15 (37.50)	16 (30.02)	0.888
Linfopenia	16 (19.75)	8 (20)	8 (10.51)	0.956
Porcentaje de monocitos^a	7.1 (5.5-8.8)	7 (5.5-8.5)	7.3 (5.8-8.8)	0.5804
Monocitos totales^a	600 (400-800)	600 (400-850)	600 (500-700)	0.9962
Anemia	24 (29.63)	14 (35)	10 (24.39)	0.296
Número de cruces de baciloscopia				
0	2 (2.47)	2 (5)	-----	0.431
1	15 (18.52)	5 (12.50)	10 (24.39)	
2	20 (24.69)	10 (25)	10 (24.39)	
3	20 (24.69)	10 (25)	10 (24.39)	
4	24 (29.63)	13 (32.50)	11 (26.83)	
Albúmina^a n = 78	3.16 (2.6 -3.8)	3.14 (2.57 - 3.76)	3.2 (2.7 -3.88)	0.7149
Hipoalbuminemia	45/78 (57.69)	23/37 (62.16)	22 (53.66)	0.448
VSG^a (n= 70)	24 (16 - 32)	27 (17 – 34)	22 (9.5 – 28)	0.0379
VSG elevada (> 20 mm) n (%)	46/70 (65.71)	25/34 (73.53)	21/36 (58.33%)	0.181
Proteína C Reactiva^a	5.68 (2.44-11.6)	4.74 (2.27 - 11.45)	5.77 (3.18 - 13.1)	0.4442
Proteína C Reactiva elevada (> 0.20)	77 (95.6)	37 (92.5)	40 (97.56)	0.293
DHL^a (n= 78)	166.5 (142 -248)	170.5 (137 - 300)	164 (144- 218.5)	0.6207
DHL elevada (n= 78)	28/78 (35.90)	15/38 (39.47)	13/40 (32.50)	0.521

Los datos están expresados en frecuencias y porcentaje, excepto cuando se indique otra forma de resumen de datos.

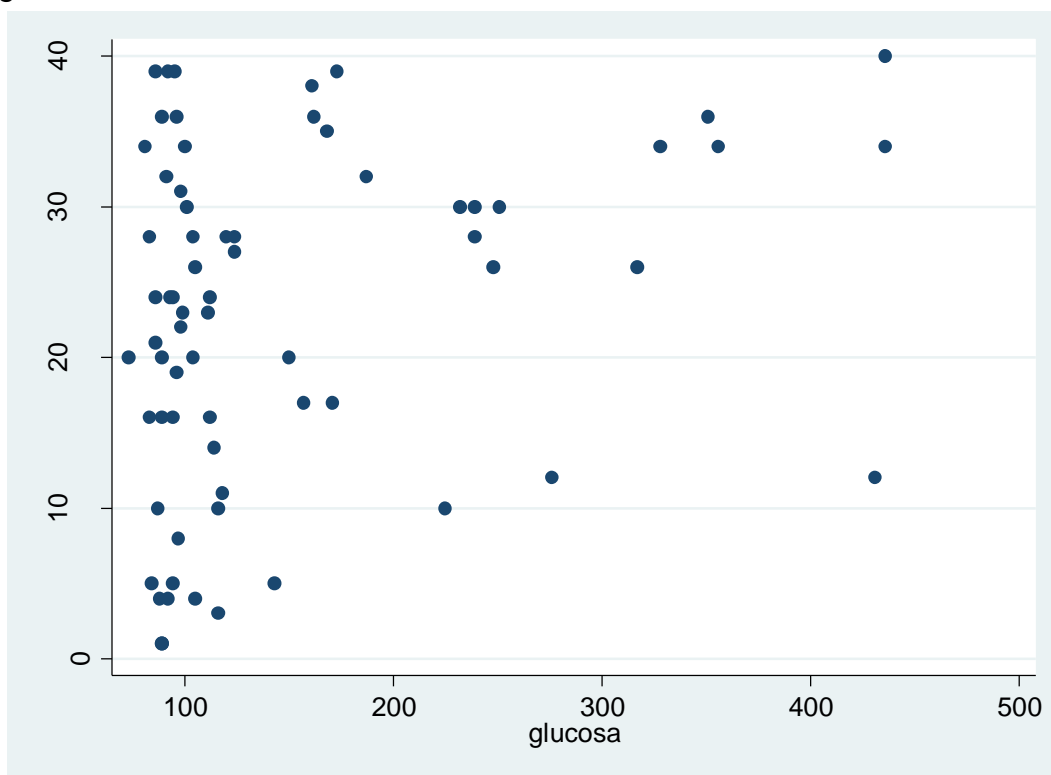
^aMediana (intervalo intercuartil)

Cuadro 6. Niveles de expresión de biomarcadores inmunológicos en pacientes con diabetes y sin diabetes.

	Población total (n = 20)	Con diabetes n= 8	Sin diabetes n = 12	Valor de p
CD 69/CD3*	4.97 (0.71-34.1)	11.65 (2.40-40.5)	3.09 (0.71 - 28.2)	0.3545
CD25/CD3*	0.89 (0.2-2.75)	0.985 (0.09-2.75)	0.89 (0.225-2.74)	0.7575
IL10/CD3*	5.78 (0.99-17.59)	3.77 (0.98-6.59)	8.10 (1.92-19.54)	0.2170
IL12/CD3*	2.99 (0.79-7.96)	3.42 (2.24-11.98)	2.73 (0.65-7.90)	0.5371
TNF/CD3*	3.10 (0.61-5.65)	1.44 (0.43-3.78)	4.36 (1.68-10.34)	0.1649
IFN/CD3*	4.68 (1.51-13.18)	7.35 (3.44-15.26)	4.39 (1.13-13.18)	0.4875
IL12/CD8*	5.05 (2.38- 7.81)	4.98 (4.5-5.11)	5.71 (2.32-11)	0.6502
IFN/CD8*	7.81 (3.55-13.8)	10.8 (4.3-13.8)	7.78 (1.98-16.6)	0.5259

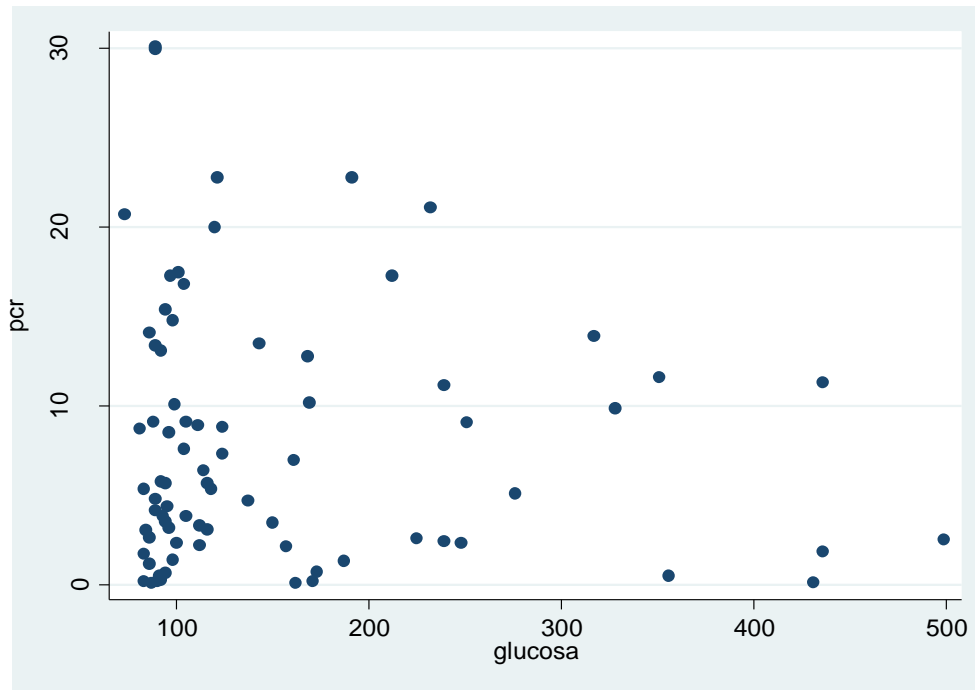
*Los resultados están expresados en mediana (intervalo intercuartil)

Grafico1. Correlación entre velocidad de sedimentación globular y nivel de glucosa sérica.



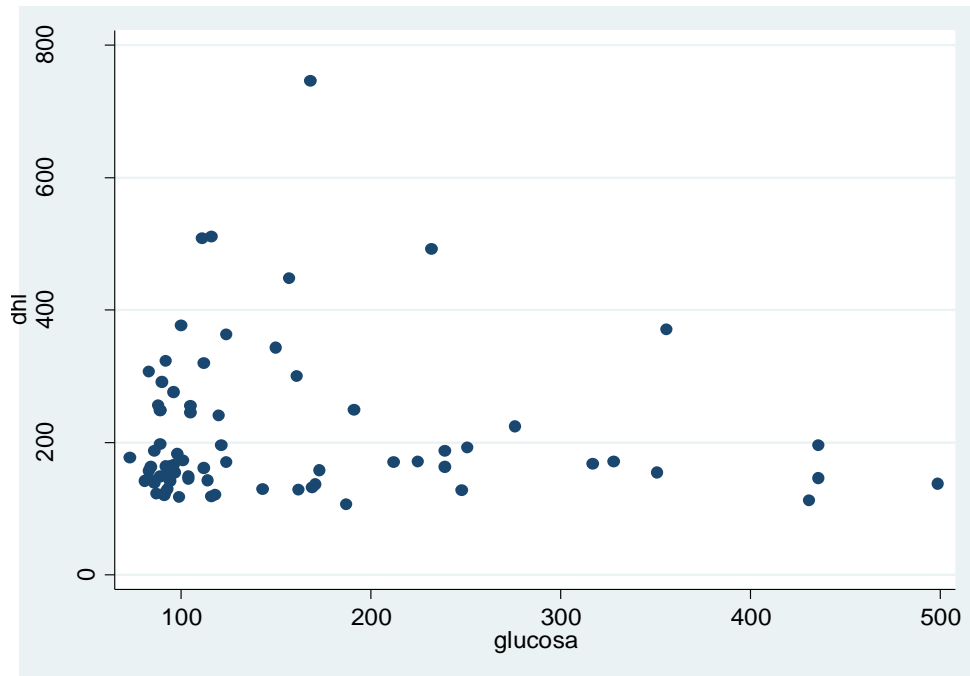
$r = 0.2551$
 $p = 0.0357$

Grafico 2. Correlación entre niveles de proteína C reactiva y glucosa sérica



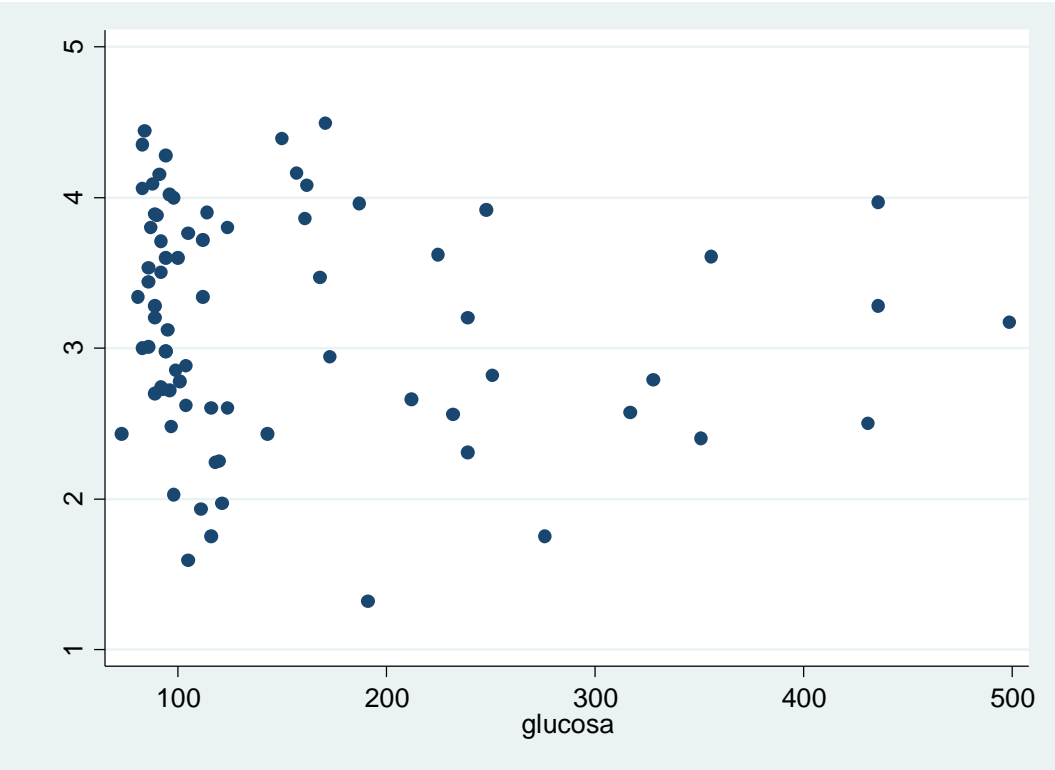
$r = 0.0126$
 $p = 0.9129$

Grafico 3. Correlación entre niveles de deshidrogenasa láctica y glucosa sérica



$r = 0.0368$
 $p = 0.7538$

Grafico 4. Correlación entre niveles de albúmina y glucosa sérica



r= -0.2250
p = 0.0523