



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARIA DE SALUD

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"**

ESPECIALIDAD EN:
NEUMOLOGIA

**EFFECTO DE LA VITAMINA D COMO TRATAMIENTO
COADYUVANTE EN LA EVOLUCIÓN EN PACIENTES
CON TUBERCULOSIS PULMONAR TRATADOS
EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS**

TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN:
NEUMOLOGÍA

PRESENTA
DR. SERGIO JOAQUÍN DÍAZ BAÑUELOS

TUTOR Y ASESOR:
DRA. MARTHA TORRES ROJAS



CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO DE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**SECRETARIA DE SALUD
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"
NEUMOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

DRA. MARIA DEL CARMEN CANO SALAS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO

DRA. MARTHA TORRES ROJAS
ASESOR Y TUTOR DE TESIS DE TITULACIÓN EN NEUMOLOGÍA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA
DEL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS:

Antes que nada agradecerle a Dios, por haberme permitido llegar a este punto y haberme dado salud, voluntad, paciencia y fortaleza para lograr mis objetivos personales y académicos.

A todas las personas que creyeron en mí y me apoyaron incondicionalmente a lo largo de mi carrera y especialidad, solo les digo que hare todo lo posible por seguir dándoles alegría y orgullo con mis logros como persona y Médico Cirujano, especialista en Neumología.

A mi Abuela María Álvarez Figueroa mi segunda madre, donde quiera que te encuentres te amo con todo mi ser, nunca serán suficientes los agradecimientos por todo el cuidado y las atenciones que me brindaste en vida, espero que lo sigas haciendo a un lado de Dios y no dejes de cuidarme. Este logro es para ti.

A mi Madre Hilda Griselda Bañuelos Álvarez mi sustento, mi orgullo, mi ejemplo a seguir por toda la lucha que ha realizado y continua realizando para brindarnos los mejor a mi y a mis hermanos. Madre te amo este logro es por ti.

A mi Abuelo Arnulfo Bañuelos González mi padre, nunca olvidare las madrugadas de estudio en que ibas a rosar mi pelo, reconfortándome y dándome ánimos para seguir adelante.

A mis hermanos Jorge Andrés y Laura Andrea que siempre me daban unas palabras de aliento al escuchar quejarme de las jornadas laborables interminables, espero que lo tomen de ejemplo y sigan luchando por sus sueños y vean que se hacen realidad con paciencia, sabiduría y fortaleza.

A mis tíos: al Dr. Roky Villanueva que siempre me ha aconsejado en cuestiones de mi profesión y de la vida en general, a Sandra Bañuelos que nunca olvidare sus palabras por haber elegido inicialmente otra especialidad y que gracias a ello y a la sabiduría de Dios y del tiempo elegí la mejor opción, a mis tíos Renato Rosales y Laura Bañuelos que desde chico me han cuidado y tratado como un hijo, por consentirme hasta en la actualidad y por hacerme reír con sus inmensas tonterías. A mi tía Marisela Bañuelos que desde lejos siempre me brindo unas palabras de animo, a mi primo Juan Reyes que me oriento en cuestiones medico legales cuando lo requerí.

A las amistades siempre fieles que han estado conmigo durante estos 4 años, en especial a mis hermanos de especialidad a los Drs. Josue Cadeza y Mauro Enseñat.

A la Dra. Martha Torres Rojas, por ser mi profesora en este trabajo, por su confianza y apoyo, por su gran interés el en estudio de los pacientes tuberculosis pulmonar y por permitirme ser parte de este trabajo.

A la Química farmacobiología Nancy Cortes por ser parte de este trabajo y ayudarme en el reclutamiento de los pacientes participantes en el estudio y en el procesamiento de las muestras en el laboratorio de investigación en microbiología.

Al Departamento de Enseñanza del Instituto Nacional De Enfermedades Respiratorias por haberme seleccionado después de haber aprobado mi Examen Nacional de Aspirantes a Residencias Medicas para cursar la especialidad de Neumología.

A la Universidad Nacional Autónoma de México en especial a la facultad de Medicina por haberme permitido ser parte de ellas.

Al Instituto Nacional De Enfermedades Respiratorias por haberme brindado sus instalaciones para mi formación y adiestramiento como médico neumólogo e infinitamente agradecido con sus pacientes por que, cada uno de ellos fueron libros para mi formación como especialista y antes que nada por su paciencia, tolerancia, respeto y cariño brindados hacia a un servidor.

¡Gracias Totales!

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Planteamiento del problema	4
3. Justificación	4
4. Pregunta de Investigación	5
5. Hipótesis	5
6. Objetivos	6
7. Material y métodos	
a. Diseño del estudio	7
b. Población en estudio	7
c. Metodología	8
d. Procesamiento y análisis estadístico	10
8. Definición de variables	11
9. Implicaciones éticas	12
10. Resultados	13
11. Discusión	18
12. Conclusiones	21
13. Referencias Bibliográficas	22
14. Anexos	24

1. INTRODUCCIÓN

Mycobacterium tuberculosis infecta a millones de personas en todo el mundo y es la segunda causa de muerte asociada a una enfermedad infecciosa después de la enfermedad provocada por el Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).¹ En 2013, se reportaron 9.0 millones de nuevos casos de tuberculosis en todo el mundo y un total de 1,5 millones de muertes por tuberculosis fueron reportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS).¹ Se recomienda que el tratamiento estándar de la TB debe durar al menos seis meses y pacientes sin tratamiento adecuado tienen una tasa de mortalidad notablemente más alta y pueden necesitar un tratamiento prolongado, que posteriormente podrían dar lugar a resistencia a los medicamentos.¹

Actualmente el tratamiento de la tuberculosis pulmonar sensible a fármacos de primera línea se basa en 2 fases, una fase intensiva que consta de 60 dosis administradas de lunes a sábado con los siguientes fármacos: rifampicina, isoniacida, piracinamida y etambutol con una fase de sosten posterior que consta de 45 dosis administradas de manera intermitente los días lunes – miércoles – viernes con los siguientes fármacos : rifampicina e isoniacida.² Sin embargo, la tuberculosis continua siendo un gran problema de salud pública en nuestro país manifestada por el alta prevalencia e incidencia y la mortalidad generada por la enfermedad (en 2010 se presentaron más de 18 mil casos nuevos y cerca de 2 mil defunciones por esta causa)², así como una considerable resistencia a los fármacos de primera línea (en 2013 se presentaron 3.5% de casos con TB multirresistente) esta causada en ocasiones por los casos de abandono, recaída y fracaso al tratamiento de primera línea.¹ Por lo que debe considerarse la implementación de nuevos agentes terapéuticos que actúen de manera independiente de los efectos bactericidas y bacteriostáticos de los fármacos de primera línea.

La búsqueda de nuevos tratamientos efectivos para la cura de la tuberculosis incluyen la identificación de actividad o efecto micobactericida de fármacos ya autorizados para su uso en humanos y que han sido diseñados para el tratamiento de otras enfermedades, en este caso podemos citar las estatinas que se prescriben para el control de la hipercolesterolemia, pero debido a que inducen mecanismos asociados con la autofagia se ha demostrado que estos fármacos exhiben actividad micobactericida.³ Recientemente se ha reportado que fármacos como las biguanidas incluyendo la metformina tienen actividad micobactericida y su posible uso en el tratamiento de la tuberculosis está en estudio.⁴ Por otra parte el uso de inmunomoduladores ha sido también ampliamente explorado en el tratamiento de la tuberculosis, resaltando el uso de la vitamina D como coadyuvante en el tratamiento de la tuberculosis.

La vitamina D se considera un inmunomodulador (sustancia que tiene la capacidad de aumentar o disminuir la respuesta inmune dependiendo de la enfermedad) en ambos niveles; Innato y adaptativo en la enfermedad tuberculosa por los mecanismos que posteriormente se mencionaran.⁵

La vitamina D, sobre todo aislada a partir de aceite de hígado de bacalao, se ha utilizado para el tratamiento de la tuberculosis desde 1930.⁶ La vitamina D ejerce diferentes efectos sobre los mecanismos inmunológicos aunque el mecanismo exacto que une la vitamina D en el tratamiento de la tuberculosis sigue siendo poco clara, la vitamina D puede reducir la duración del tratamiento de la tuberculosis, contribuyendo a la mejora del sistema inmunológico y sus respuestas contra *Mycobacterium tuberculosis*.⁷

La forma activa de la vitamina D, el calcitriol (1, 25-dihidroxitamina D3),^{8,9} induce la liberación de péptido antimicrobiano por parte de los macrófagos, estudios in vitro demuestran que la activación del receptor de reconocimiento de patrones, el Toll like receptor 2 (TLR2) induce la muerte de *M. Tuberculosis* asociada a la producción de catelecidina LL37 y, que este efecto es dependiente de la Vitamina D. Las catelecidinas son componentes esenciales de la respuesta inmune innata de vertebrados, pues además de sus funciones antimicrobianas, modulan la respuesta inflamatoria y la quimio atracción de células inmunes. El gen que codifica para la catelecidina humana es el hCAP18/LL37 y su expresión se induce en presencia de lipopolisacárido, interleucina 6 y ácido retinoico. La proteína precursora generada por la traducción del RNA mensajero hCAP18, es modificada proteolíticamente por una proteasa de serina para formar un péptido de 37 aminoácidos conocido como LL37, con actividad bactericida. Además de su efecto bactericida, se ha observado que la LL37 modula la respuesta inmune en otros niveles promoviendo la expresión de interleucina 1 y 8. La LL37 no es el único péptido antimicrobiano generado en presencia de *M. tuberculosis* y cuya síntesis se induce por la Vitamina D. En monocitos humanos se ha demostrado que la lipoproteína 19 kD, un componente de la pared de *M. tuberculosis*, promueve la producción de Beta defensina 4 (DEFB4), este péptido tiene un efecto bactericida directo sobre *M. tuberculosis* demostrado in vitro, el gen que codifica para DEFB4 es regulado a nivel transcripcional por la Vitamina D.⁵

Otro mecanismo micobatericida potenciado por la vitamina D es la producción de intermediarios de oxígeno, se ha encontrado que la 1,25- Vitamina D3 actúa para suprimir el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* en macrófagos y que este efecto se inhibe por NG monometil-L-arginina, lo que sugiere que la vitamina D induce la producción de NO y puede jugar un papel en la defensa del huésped contra tuberculosis humana.¹⁰⁻¹²

La vitamina D induce cambios biológicos a través de la unión con su receptor (VDR) y de esta manera modular las respuestas del huésped. El VDR localizado en el citoplasma de la célula, es esencialmente, un factor de transcripción que pertenece a la familia de receptores nucleares de hormonas esteroideas que regulan la respuesta a ligandos hidrofóbicos, que se difunden libremente al interior de las células. Una vez unido el VDR a su ligando, el complejo VDR – Vitamina D activa la transcripción por heterodimerización con los receptores retinoides (RXR) y se transloca al núcleo donde se asocia en sitios específicos de reconocimiento del DNA llamados elementos de respuesta VDR (VDREs), que son secuencias de nucleótidos ubicadas en el promotor de los genes blanco o en las regiones llamadas potenciadores, induciendo la síntesis de RNA mensajero y la síntesis

de proteínas. El VDR regula una gran cantidad de genes en los seres humanos entre ellos, están incluidos los genes de respuesta inmune como la catelicidina LL37.⁵

Por otro lado, existe un extenso número de publicaciones en los que se ha utilizado la vitamina D como tratamiento coadyuvante en pacientes con tuberculosis pulmonar.

Recientemente Martineau ¹³ y colaboradores evaluaron el efecto coadyuvante de la vitamina D en la conversión del cultivo bacteriológico del esputo de paciente con tuberculosis pulmonar, para lo cual, reclutaron 126 pacientes recientemente diagnosticados con tuberculosis pulmonar y bacilos ácido alcohol resistente visibles en la baciloscopia. De forma aleatoria 62 pacientes recibieron 2.5 mg de vitamina D los días 0, 14, 28 y 42, además del tratamiento anti - tuberculosis. 64 pacientes fueron asignados al grupo que no recibió Vitamina D. A todos los pacientes incluidos en el estudio se les realizó la genotificación de los fenotipos TaqI Y FokI del receptor de vitamina D. Los resultados demostraron que los pacientes que recibieron Vitamina D tuvieron un tiempo medio de negativización del cultivo de 36 días, el cual fue significativamente menor al tiempo de negativización del grupo que no recibió Vitamina D (43.5 días, P=0.14). Los autores concluyeron que la administración de 4 dosis de 2.5 mg de Vitamina D incrementó su concentración en pacientes en la fase intensiva de tratamiento.

Por este estudio se sugiere que la suplementación puede acortar la duración del tratamiento o beneficiar a los pacientes con TB. Recientemente, varios ensayos clínicos publicados han informado de los efectos de la suplementación con vitamina D en el tratamiento de la tuberculosis.¹³⁻¹⁷ Sin embargo, los resultados han sido inconsistentes.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis pulmonar es una enfermedad infectocontagiosa que se presenta en todo el mundo, con una incidencia y prevalencia variables. La OMS la considera como la segunda causa de muerte por agente infeccioso.¹

A pesar del descubrimiento en la décadas de los 50s del siglo pasado del primer tratamiento (estreptomina) activo frente al bacilo de la tuberculosis, el tratamiento actual no es eficaz en todos los casos lo que genera recaídas y fracasos al tratamiento. Por otra parte se ha reportado que pacientes con tuberculosis pulmonar presentan niveles deficientes de Vitamina D, la cual tiene actividades inmunomoduladoras y es capaz de inducir mecanismos bactericidas. Por lo que en el presente estudio se evaluaron los efectos de la administración de Vitamina D durante la fase intensiva del tratamiento de la tuberculosis pulmonar sobre la conversión bacteriológica y la actividad bactericida de células de sangre periférica obtenidas durante el tratamiento farmacológico.

3. JUSTIFICACIÓN

Según el reporte global de tuberculosis de la OMS del 2014,¹ se diagnosticaron 9.0 millones de casos nuevos en el año 2013, de los cuales murieron 1.5 millones de personas. Aunque México no está entre los 22 países con mayor carga de la enfermedad, cuenta con una incidencia de 16.7 x 100,000 habitantes, la enfermedad sigue causando muchas muertes estimándose la mortalidad en 1.8 x 100,000 habitantes en el año 2008.

Estudios observacionales publicados entre 1989 y el 2008, han encontrado una asociación entre los niveles bajos de vitamina D y el riesgo de progresión de la tuberculosis,²⁴ reportando que los niveles séricos bajos de vitamina D se asocian a un mayor riesgo de tuberculosis activa, sugiriendo un papel potencial terapéutico de la suplementación con vitamina D en pacientes con tuberculosis activa e hipovitaminosis D. En este sentido la bibliografía reporta un solo ensayo clínico que ha estudiado el efecto de la suplementación con vitamina D en este tipo de pacientes, encontrando resultados variables en población inglesa, pero ninguno se ha realizado en poblaciones hispanas, por lo que no se han considerado factores genéticos y ambientales que pueden afectar los niveles de vitamina D que no han sido evaluados en nuestra población.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos microbiológicos e inmunológicos en pacientes que reciben vitamina D como coadyuvante al tratamiento convencional en pacientes con tuberculosis pulmonar sensibles a fármacos de primera línea?

5. HIPOTESIS

La co – administración de Vitamina D y de fármacos anti tuberculosis se asocia a:

1. Respuesta al tratamiento medido como la rápida negativización de las baciloscopias y los cultivos en pacientes con tuberculosis pulmonar.
2. El aumento de mecanismo bactericidas de la respuesta inmune contra *Mycobacterium tuberculosis* en células de sangre periférica obtenidas durante el tratamiento farmacológico.

6. OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar el efecto de la suplementación con vitamina D en la evolución clínica y el tiempo de negativización de las baciloscopias y cultivos en pacientes que reciben tratamiento de tuberculosis pulmonar con fármacos de primera línea.

Objetivos Específicos:

1. Determinar si hay una correlación entre los niveles séricos de Vitamina D y la respuesta al tratamiento farmacológico de la tuberculosis.
2. Determinar el efecto del tratamiento de vitamina D sobre la actividad bactericida y la fagocitosis de monocitos de sangre periférica obtenidos de pacientes con tuberculosis durante el tratamiento farmacológico y la administración de vitamina D.
3. Evaluar el perfil de citocinas producidas por células de sangre periférica de pacientes con tuberculosis con o sin suplementación con vitamina D en respuesta a la estimulación in vitro con antígenos micobacterianos.

7. MATERIAL Y METODOS

a) Diseño del estudio

Se llevó a cabo un ensayo clínico (controlado, aleatorizado, abierto, estudio de eficacia) en pacientes que fueron atendidos en la clínica de tuberculosis del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Los pacientes fueron reclutados a partir de Noviembre de 2014 a Junio de 2016.

b) Población en estudio

Se incluyeron 8 pacientes con diagnóstico reciente de tuberculosis pulmonar bacteriológicamente confirmada por baciloscopia en serie de tres y por cultivo positivo para *M. tuberculosis* sensible a fármacos de primera línea (rifampicina, isoniacida, pirazinamida y etambutol), los cuales serán agrupados de la siguiente forma:

1) pacientes que recibieron Vitamina D (VD) (n=4)

2) pacientes que no recibieron vitamina D (SVD) (n=4)

Todos los pacientes recibieron el tratamiento farmacológico de la tuberculosis con fármacos de primera línea en esquema TAES (60 dosis de rifampicina, isoniacida, etambutol y pirazinamida en la fase intensiva y 45 dosis de rifampicina e isoniacida en la fase de sostén), para lo cual fueron referenciados al centro o unidad de salud correspondiente para su seguimiento farmacológico de manera diaria o intermitente según la fase de tratamiento para la tuberculosis. Para el seguimiento clínico en el INER a cada paciente se le solicitó presentarse al INER en las semanas 0, 2, 4, 6 y 8 del la fase intensiva de tratamiento.

Se incluyeron a 5 hombres y 3 mujeres con un intervalo de edad entre 19 y 62 años, con diagnóstico de tuberculosis confirmado por baciloscopias y cultivo positivo, sin evidencia documentada de haber recibido tratamiento previo para la tuberculosis, con valores de hemoglobina mayor a 10 g/dL y dispuestos a otorgar su consentimiento por escrito para participar en el estudio.

Criterios de exclusión

1. Que el voluntario se niegue a firmar la carta de consentimiento informado.
2. Que el voluntario ya no desee donar su muestra sanguínea para el seguimiento del estudio.
3. Que presente efectos secundarios adversos.
4. Pacientes con diagnóstico de VIH, o que no estén dispuestos a consentir la realización de la prueba.
5. Enfermedad inflamatoria intestinal.
6. Hepatitis aguda o crónica.
7. Enfermedad renal crónica.

8. Cardiopatías.
9. Cáncer.
10. Antecedentes de alcoholismo o drogadicción.
11. Enfermedad pulmonar crónica.
12. Procesos infecciosos activos.
13. Enfermedades autoinmunes.

c) Metodología

Aleatorización de voluntarios

Se reclutaron los voluntarios que hayan firmado la carta de consentimiento, se utilizó un programa estadístico EPIDAT 4.0 para la aleatorización de los voluntarios. Se ingresó el total de voluntarios calculados y el número de grupos (2) así el programa asignaba a que grupo iba cada voluntario y el número de codificación correspondiente en cada grupo.

Grupos de tratamiento

Se obtendrán dos grupos de trabajo de acuerdo a las siguientes características.

A los pacientes incluidos en el grupo 1 (administración de vitamina D) se les proporcionará una dosis diaria de 2 mg (equivalente a 200 UI) de vitamina D durante los dos primeros meses del tratamiento antituberculosis, a los pacientes en grupo 2 (administración de placebo) se les proporcionará una dosis diaria durante los dos primeros meses del tratamiento antituberculosis, La evaluación clínica del paciente se realizó cada quince días. La evaluación inmunológica y bacteriológica se evaluará en mismo tiempo descrito.

Característica	Grupo Vit D	Grupo Sin Vit D
Dosis	200 UI	NA
mg administrados/ día	2	NA
Periodicidad	Diaria	Diaria
Fase del tratamiento en el que se administra	Fase Intensiva	Fase Intensiva
Vía de administración	Oral	Oral
Tiempo de administración	2 meses	2 meses
Periodo de seguimiento	2 meses	2 meses

Se contempla durante el seguimiento clínico del paciente la eventualidad de detectar efectos adversos a la vitamina D, los cuales serían debidamente atendidos registrados y reportados al comité dentro de los tiempos inmediatos a su ocurrencia.

Obtención de muestras biológicas

1. Se solicitó a los voluntarios de ambos grupos; expectoración matutina del mismo día que acudieron a sus citas programadas (0, 2, 4, 6 y 8 semanas) posterior al inicio del estudio, dicha muestra fue llevada por el médico residente participante al servicio de microbiología clínica para ser procesada y realizara baciloscopia y cultivo para *M. tuberculosis*.
2. Se solicitó una muestra de sangre en una cantidad aproximada de 30 ml para la realización de las determinaciones inmunológicas antes de la administración del tratamiento. Posteriormente, se obtuvieron muestras de sangre de todos voluntarios que reciben el tratamiento anti-tuberculosis con o sin suplementación con vitamina D a la semana 0, 2, 4, 6, y 8. Estas muestras de sangre se utilizaron para la realización de las evaluaciones inmunológicas (determinación de citocinas y expresión de genes de la respuesta inmune y determinaciones de niveles de vitamina D) en los distintos tiempos de evaluación mencionados anteriormente y serán procesados en el departamento de investigación en microbiología.
3. Determinación de vitamina D. Se determinaron los niveles de vitamina D en las muestras de plasma de pacientes con tuberculosis antes y durante el tratamiento anti-tuberculosis en la fase intensiva en presencia o ausencia de suplementación con Vitamina D, en los tiempos previamente mencionados.
4. Obtención de células mononucleares de sangre periférica. Las células mononucleares de sangre periférica (*PBMC peripheral blood mononuclear cells*) se obtuvieron por centrifugación sobre Ficoll-paque (16) y se re suspendieron en medio de cultivo RPMI complementado con 2% de suero humano.
5. Determinación de fagocitosis y control del crecimiento intracelular de *M. tuberculosis* . Para determinar la fagocitosis y la actividad bactericida de los monocitos periféricos de pacientes con tratamiento con y sin Vitamina D, se utilizó la tinción con Ziehl-Neelsen y cuenta de unidades formadoras de colonias (CFU). Para estas determinaciones las células fueron infectadas por triplicado para evaluar fagocitosis y en triplicados en paralelo para la cuentas de CFU. Los monocitos fueron colocados en placas de 96 pozos a una concentración de 10^5 células por pozo e incubados por 16 horas en medio RPMI al 10% de suero humano a 37°C y 5% de CO_2 . El sobrenadante de cultivo fue eliminado y las células infectadas con *M. tuberculosis* cepa H37Ra (avirulenta) a una multiplicidad de infección (MOI) de 0.1 y 1 respectivamente. Después de una hora de infección el sobrenadante se desecho y las bacterias libres fueron eliminadas por lavados consecutivos con RPMI. Los pozos para evaluar la fagocitosis fueron teñidos para su análisis por citometría o bien por la técnica de ZN. Por otro lado los ensayos destinados para la determinación de la actividad bactericida, las

células fueron incubadas por periodos de 1 hora, 24 horas, 4 y 7 días. Después el sobrenadante se recolectó para determinación de citocinas y las células fueron lisadas con una solución de PBS al 0.1% de SDS. Diluciones seriales de los lisados se cultivaron por triplicado en medio Middlebrook 7H10 y las CFU se determinaron a los 21 días de incubación a 37⁰ C y 5% de CO₂

d) Procesamiento y analisis estadistico

Las variables de los resultados se describieron como medias y error estándar. Las pruebas de hipótesis se hicieron con prueba T para dos muestras. Se considerarán como significativas aquellas diferencias con una $P < 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 14.0.

8. DEFINICIÓN DE VARIABLES

INDEPENDIENTES

	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
VARIABLES DEL PACIENTE	Edad	Años transcurridos desde el nacimiento a la fecha del estudio	Númerica discreta	Años cumplidos
	Genero	Sexo del individuo	Nominal dicotómica	0)Femenino 1) Masculino
	Peso	Cantidad de kilogramos que pesa un individuo	Númerica discreta	Kg
	Talla	Designa la altura de un individuo	Númerica discreta	M
	Comorbilidades	Padecimientos concomitantes a Tuberculosis pulmonar	Nominal	Diabetes mellitus VIH
	IMC	índice sobre la relación entre el peso y la altura	Númerica discreta	Kg/m2
SEROLOGIA	Glucosa sérica	Nivel de glucosa sanguínea	Cuantitativa discreta	mg/dl
	Hemoglobina	Proteína presente en el torrente sanguíneo que permite el transporte de oxígeno	Cuantitativa discreta	mg/dl
	Leucocitos	Célula sanguínea efectora de la respuesta inmune	Cuantitativa discreta	cel/mm3
	Creatinina	Producto de desecho del metabolismo normal de los músculos	Cuantitativa discreta	mg/dl
	Albumina	Proteína que se encuentra en gran proporción en el torrente sanguíneo	Cuantitativa discreta	mg/dl
	TGO/TGP	Enzimas que cumplen una función metabólica intracelular	Cuantitativa discreta	U/L

DEPENDIENTES

	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
MICROBIOLOGIA	Baciloscopia	Prueba utilizada para determinar bacilos en una muestra determinada	Númerica discreta	-. +, ++, +++
	Cultivo	Método para la multiplicación de microorganismos	Nominal dicotómica	Positivo + Negativo –
SEROLOGIA	Vitamina D	Vitamina hidrosoluble esencial para mantener el equilibrio mineral del cuerpo	Cuantitativa discreta	ng/dl

9. IMPLICACIONES ETICAS

Se realizo un ensayo clínico en pacientes atendidos en la clínica de tuberculosis del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. El proyecto fue registrado y autorizado por el comité de etica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER); Ismael Cosio Villegas el 31 de Enero de 2014. A todos los pacientes se les informo de manera amplia y precisa a cerca del estudio (beneficios personales, investigacion medica y posibles efectos adversos) y posteriormente si estuvieron de acuerdo se es incluyo si estuvieron dispuestos a otorgar su consentimiento por escrito para participar en el estudio. Al grupo de intervención se le administro una dosis diaria de 2 mg (200 UI) durante la fase intensiva del tratamiento antituberculosis, al grupo restante se administró placebo (con respecto a la Vitamina D) durante la fase intensiva del tratamiento antituberculosis.

No se reportaron efectos adversos (relacionados con la administración del farmaco, placebo y en las intervenciones para obtencion de muestras sanguineas). El estudio permitio conocer la relación de los niveles de vitamina D y la enfermedad, esto nos permite avalar junto con estudios anteriores que se han realizado, el potencial benefico del uso de Vitamina D como tratamiento coadyuvante al tratamiento convencional en pacientes con Tuberculosis pulmonar e hipovitaminosis D.

10. RESULTADOS

Características basales de los participantes

En total se incluyeron 8 pacientes en el estudio, divididos en 2 grupos (tabla 1); 4 al grupo que recibió vitamina D y 4 al grupo que recibió placebo (SVD) junto con el tratamiento convencional para la tuberculosis. Participaron 5 hombres (3 en el grupo de Vitamina D y 2 al grupo de placebo) y 3 mujeres (1 en el grupo de Vitamina D y 2 al grupo de placebo). Los resultados fueron expresados en medias; La edad fue similar entre los grupos siendo un poco mayor la del grupo de vitamina D (41.2 años), medidas antropométricas peso y altura mayores en el grupo de placebo (66.5 kg y 1.64 m respectivamente) y los pacientes con vitamina D con tendencia al sobrepeso (26.9 Kg/m²). En parámetros de laboratorio muy similares los grupos excepto en la glucemia que fue mayor en el grupo que recibió vitamina D (explicado por que 2 pacientes presentaban DM a diferencia del grupo placebo con 1 solo paciente con DM). Y ninguno de los pacientes fue positiva para la prueba VIH y/o presentaba otras formas de inmunodepresión.

Tabla 1. Características clínicas y de laboratorio en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.

Variable	VD	SVD	Valor p
n	4	4	-
Genero (M/F)	3/1	2/2	-
Edad (Años)	41.2 (28 – 58)	37 (19 – 62)	0.724
Peso (Kg)	60.7 (45 – 82)	66.5 (51 – 78)	0.122
Altura (m)	1.60 (1.43 – 1.79)	1.64 (1.52 – 1.77)	0.523
IMC (Kg/m²)	26.9 (19.2 – 32.5)	23.7 (22 – 30.8)	0.427
Glucosa serica (mg/dl)	146.5 (99 – 222)	127.5 (94 – 183)	0.642
Hb (g/dl)	13.4 (12.4 – 15.4)	13.8 (12.9 – 14.4)	0.623
Leucocitos (cel/dl)	8.3 (5.5 – 12-2)	7.1 (5.5 – 9)	0.491
Creatinina (mg/dl)	0.92 (0.82 – 1.09)	0.72 (0.65 – 0.82)	0.38
Albumina (mg/dl)	3.65 (3.25 – 4.05)	3.15 (2.95 – 3.35)	0.90
TGO	21.2 (17 – 32)	43.0 (26 – 72)	0.961
TGP	17.2 (7 – 25)	27 (23 – 32)	0.82
DM	2/4	1/4	-
VIH	0/4	0/4	-

IMC = Índice de masa corporal, Hb =, Hemoglobina, TGO= Aspartato aminotransferasa, TGP = Alanino aminotransferasa, DM = Diabetes mellitus, VIH = Virus de la inmunodeficiencia humana.

Evolución microbiológica de la baciloscopia

Como se puede observar en la tabla 2; En el grupo de VD: en 3 pacientes las baciloscopias fueron negativas a los 15, 30 y 45 días, 1 de estos 3 pacientes negativizo de manera inicial, sin embargo a los 60 días nuevamente fue positiva y en un paciente la baciloscopia persistió positiva a los 60 días. El tiempo promedio de negativización de la baciloscopia en el grupo fue de 30 días.

En el grupo de SVD: en 3 pacientes las baciloscopias fueron negativas a los 15 días, 1 de estos 3 pacientes negativizo de manera inicial sin embargo, a los 60 días nuevamente fue positiva, en un paciente la baciloscopia persistió positiva a los 60 días. El tiempo promedio de negativización de la baciloscopia en el grupo fue de 15 días, menor a comparación al grupo anterior (Grafica 1).

Evolución microbiológica del cultivo

Como se puede observar en la tabla 3; En el grupo de VD: el cultivo microbiológico de 3 pacientes fueron negativos, 2 a los 30 días y 1 a los 45 días con un tiempo promedio de negativización en el grupo de 35 días, tiempo menor a comparación del grupo de SVD. Un paciente el cultivo microbiológico persistio positivo a los 60 días.

En el grupo de SVD: el cultivo microbiológico de 2 pacientes fueron negativos a los 30 y 60 días con un tiempo promedio de negativización en el grupo de 45 días. Dos pacientes el cultivo microbiológico persistio positivo a los 60 días.

Niveles sericos de Vitamina D

Como se puede observar en la tabla 4; En el grupo de VD los niveles séricos basales de Vitamina D (antes de recibir el tratamiento) fueron mayores en cada uno de los pacientes en comparación con los niveles séricos de los pacientes del grupo control, con un nivel promedio de Vitamina D de 21.45 ug/dl (Grafica 2) a comparación del grupo SVD que presento un nivel promedio de Vitamina D de 10.82 ug/dl.

Con respecto a los niveles séricos de vitamina D durante la fase intensiva de tratamiento en pacientes que recibieron tratamiento coadyuvante con Vitamina D, no se encontraron elevaciones considerables de dichos niveles durante los tiempos de control (tabla 5) e inclusive al termino del tratamiento los niveles fueron inferiores a comparación con los basales.

De manera similar se comporto el grupo de que no recibio vitamina D (esperado en este grupo por no recibir tratamiendo coadyuvante con Vitamina D), se omitieron las tomas de los días 15 y 45 por no esperar cambios considerables en los niveles séricos de Vitamina D al ser el grupo control (tabla 5).

Tabla 2. Evolución microbiológica de la baciloscopia en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.

Paciente	Microorganismo	Baciloscopia				
		Inicio	15 días	30 días	45 días	60 días
VD1	<i>M. tuberculosis</i>	+	-	-	-	+
VD2	<i>M. tuberculosis</i>	+++	+++	+++	++	++
VD3	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	-	-	-
VD4	<i>M. tuberculosis</i>	+++	+++	+++	-	-
SVD1	<i>M. tuberculosis</i>	+++	+++	++	+	+
SVD2	<i>M. tuberculosis</i>	+++	-	-	-	++
SVD3	<i>M. tuberculosis</i>	+	-	-	-	-
SVD4	<i>M. tuberculosis</i>	+++	-	-	-	-

Negativo - : No se observan BAAR en 100 campos observados.

Positivo +: Se observan menos de un bacilo por campo en promedio en 100 campos observados.

Positivo ++: Se observan de 1 a 10 bacilos por campo en promedio en 50 campos observados.

Positivo +++: Se observan más de 10 bacilos por campo en promedio en 20 campos observados.

Tabla 3. Evolución microbiológica de cultivo en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.

Paciente	Microorganismo	Cultivo				
		Inicio	15 días	30 días	45 días	60 días
VD1	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	-	-	-
VD2	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+	-	-
VD3	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	-	-	-
VD4	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	+	+	+
SVD1	<i>M. Tuberculosis</i>	+	+	+	+	-
SVD2	<i>M. Tuberculosis</i>	+	+	+	+	+
SVD3	<i>M. Tuberculosis</i>	+	+	+	+	+
SVD4	<i>M. tuberculosis</i>	+	+	-	-	-

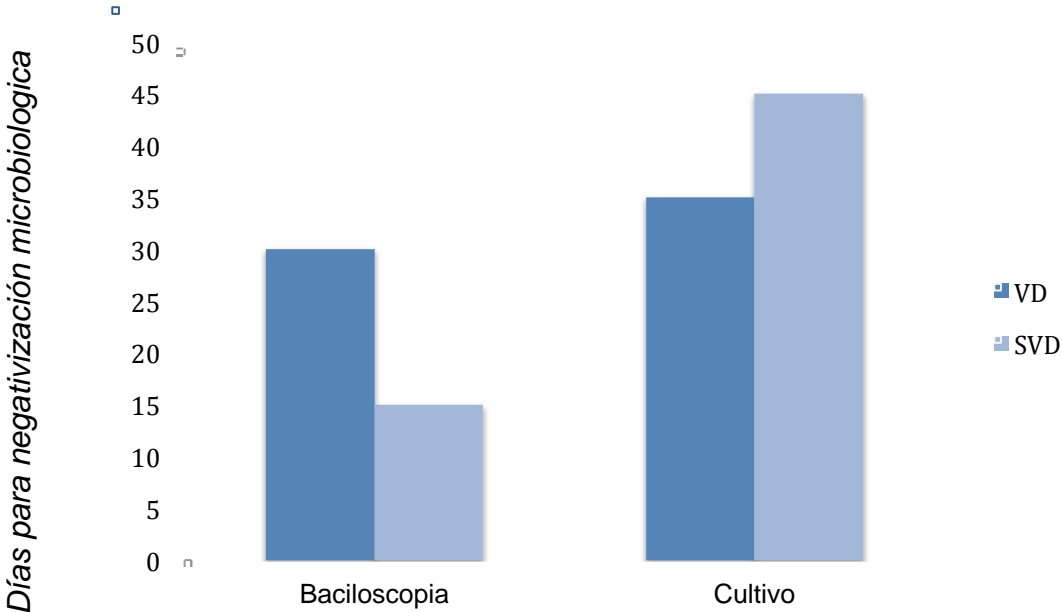
Tabla 4. Niveles séricos basales de Vitamina D en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.

Paciente	Niveles séricos basales de Vitamina D en ug/dl
VD1	19.7 ug/dl
VD2	25.1 ug/dl
VD3	15.7 ug/dl
VD4	25.3 ug/dl
SVD1	14.4 ug/dl
SVD2	7.75 ug/dl
SVD3	7.97 ug/dl
SVD4	13.2 ug/dl

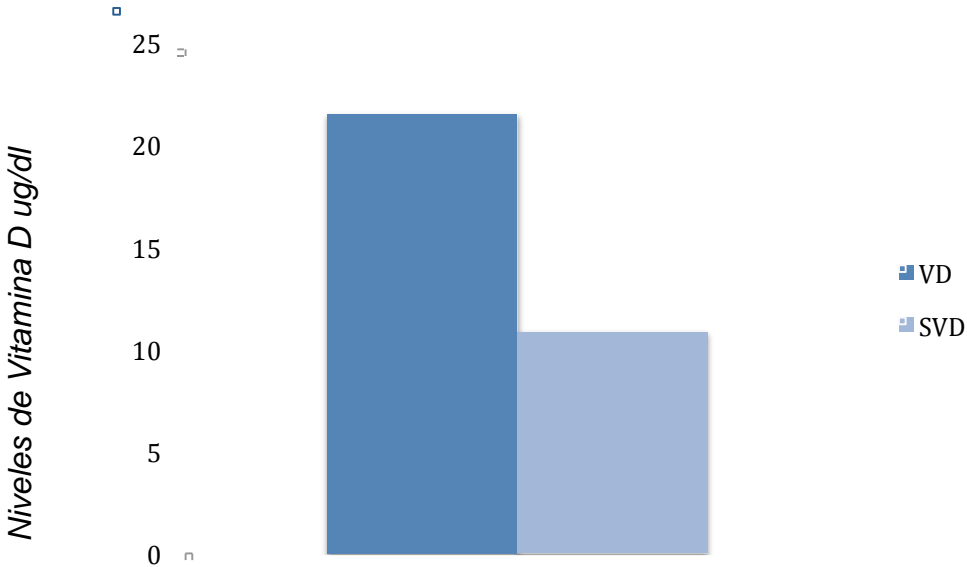
Tabla 5. Niveles séricos de Vitamina D en los determinados tiempos del estudio en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.

Paciente	Niveles séricos de vitamina D en ug/dl				
	Inicio	15 días	30 días	45 días	60 días
VD1	19.7	27.2	15.5	12.7	16.2
VD2	25.1	25.4	27.5	24.7	22.9
VD3	15.7	15.8	17.2	15.2	15
VD4	25.3	21.1	21.2	19.4	18.6
SVD1	14.4		11.1		10.4
SVD2	7.75		8.87		6.37
SVD3	7.97		15.1		12.5
SVD4	13.2		6.82		9.46

Grafica 1. Tiempo medio de negativización de baciloscopia y de cultivo en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.



Grafica 2. Promedio de niveles basales séricos de vitamina D en pacientes que recibieron vitamina D y pacientes que no recibieron vitamina D.



11. DISCUSIÓN

La vitamina D ejerce diferentes efectos sobre los mecanismos inmunológicos aunque el mecanismo exacto que une la vitamina D en el tratamiento de la tuberculosis sigue siendo poco clara, la vitamina D puede reducir la duración del tratamiento de la tuberculosis, contribuyendo a la mejora del sistema inmunológico y sus respuestas contra *Mycobacterium tuberculosis*.⁷

En nuestro estudio encontramos el tiempo medio de la negativización del cultivo microbiológico fue de 35 días para el grupo que recibió Vitamina D el cual fue menor al tiempo de negativización del grupo que no recibió vitamina D con 45 días sin ser estadísticamente significativo.

Donde si encontramos datos contradictorios fue en el tiempo medio de la negativización de la baciloscopia, que para el grupo que recibió Vitamina D fue de 30 días, tiempo menor respecto al grupo que no recibió Vitamina D con un tiempo medio de negativización de la baciloscopia de 15 días; Esta situación pudo deberse a: a) la baciloscopia es un procedimiento operador dependiente (personal con poca experiencia puede arrojar resultados falsos positivos o negativos), b) la baciloscopia no detecta de manera única bacilos del complejo *mycobacterium tuberculosis*, c) la baciloscopia puede detectar otras bacterias como ejemplo nocardia y d) puede detectar bacilos no viables (micobacterias muertas).

Con respecto a la evolución microbiológica nuestros datos correlacionan con los ensayos publicados anteriormente, un estudio en Londres evaluó el efecto coadyuvante de la vitamina D en la conversión del cultivo de esputo a negativo. Los resultados demostraron que los pacientes que recibieron Vitamina D tuvieron un tiempo medio de negativización del cultivo de 36 días, el cual fue significativamente menor al tiempo de negativización del grupo que no recibió Vitamina D (43.5 días, $P = 0.14$).¹³

Una fortaleza de nuestro estudio que evaluó el tiempo medio de negativización de la baciloscopia, aspecto que no fue evaluado en estudios previos.

Con respecto a los niveles séricos de Vitamina D basales y al final del tratamiento de la fase intensiva; En ambos grupos encontramos algún tipo de disminución considerable, catalogada como insuficiencia de niveles séricos de vitamina D < 30 ug/dl y deficiencia < 20 ug/dl como múltiples ensayos han considerado estas definiciones.^{22, 23}

Los niveles basales del grupo de Vitamina D fueron más altos (nivel promedio de Vitamina D de 21.45 ug/dl) que los niveles basales del grupo placebo con un nivel promedio de Vitamina D de 10.82 ug/dl .

En el grupo que recibió tratamiento coadyuvante con Vitamina D los niveles séricos de la Vitamina D al final del tratamiento de la fase intensiva no tuvieron cambios considerables en aumento, si no lo contrario todos los pacientes presentaron una disminución a

comparación de los niveles basales, situación no esperada debido a la suplementación de la Vitamina D y los aportes naturales basados en la dieta y en la exposición solar. Este resultado nos orienta a pensar que posiblemente hay algún tipo de afectación en el metabolismo de la Vitamina D en pacientes con tuberculosis pulmonar a pesar que se excluyeron en nuestro estudio a todas las causas orgánicas que pudieran presentar alguna alteración metabólica (Insuficiencia hepática, renal, inmunodepresión, cáncer, procesos infecciosos activos, etc.). Situación similar ocurrió en el grupo que no recibió Vitamina D en el que el 75% de los pacientes finalizaron con niveles séricos disminuidos a comparación de los basales.

En estudios previos se han demostrado disminución de los niveles séricos de vitamina D en pacientes con tuberculosis pulmonar, sin embargo sus criterios de inclusión y exclusión eran diferentes. Estos estudios también han incluido pacientes con enfermedad hepática, enfermedad renal y alcohólicos, características donde se podría encontrar alteraciones del metabolismo de la vitamina D.¹⁴⁻¹⁶ Otra fortaleza de nuestro estudio es que se excluyó la mayoría de las causas que pudiera interferir con el metabolismo de la vitamina D. Únicamente incluimos a 3 pacientes con DM (enfermedad que además se asoció de manera directa con hipovitaminosis D).

Estudios observacionales publicados entre 1989 y el 2008, han encontrado una asociación entre los niveles bajos de vitamina D y el riesgo de progresión de la tuberculosis,²⁴ reportando que los niveles séricos bajos de vitamina D se asocian a un mayor riesgo de tuberculosis activa, sugiriendo un papel potencial terapéutico de la suplementación con vitamina D en pacientes con tuberculosis activa e hipovitaminosis D.

Un total de 15 estudios¹⁶ fueron incluidos en un meta-análisis en 2013. Se obtuvo el número de sujetos en los grupos de control de TB y en diferentes rangos de concentración para explorar el riesgo de TB activa basada en los niveles de vitamina D. Se establecieron cuatro rangos de concentración en los artículos originales: < 12,5 ug/dl, 13-25 ug/dl, 26-50 ug/dl, y 51-75 ug/dl. Un aumento significativo del riesgo de TB activa se identificó en los niveles séricos de vitamina D < 12,5 ug/dl (OR agrupado = 4,556; IC del 95% = 2,200 a 9,435; p <0,001) y 13-25 ug/dl (agrupado OR = 3,797; IC del 95% = 1,935 a 7,405; p <0,001). Aunque el OR combinado de los niveles de 26-50 ug/dl llegó a 1.561, la asociación no fue estadísticamente significativa. (IC del 95% = 0,997 a 2,442; p = 0,051). En el rango de 51-75 ug/dl, no se encontró una asociación positiva (OR = 1,160; IC del 95% = 0,708 a 1,900; p = 0,550).

Estos resultados indican que una vitamina D en suero concentración de < 25 ug/dl se asoció con un aumento significativo del riesgo de TB activa, mientras que ninguna asociación positiva se encuentra en el nivel de 51-75 ug/dl.

Esto nos determina que los pacientes que recibieron Vitamina D estaban en grado de deficiencia frente a los pacientes que no recibieron Vitamina D que se encontraron como insuficiencia. Ambos grupos presentaban riesgo de desarrollar tuberculosis activa según

por los niveles séricos basales de Vitamina D por lo que la consideración de administrar este coadyuvante no fue de manera errónea.

Esto apoyado por los resultados del cultivo microbiológico; En los pacientes que recibieron Vitamina D el tiempo medio de la negativización del cultivo fue menor a comparación del grupo que no recibió, esto nos orienta que a pesar que ninguno de los 2 grupos haya presentado niveles séricos normales de Vitamina D, niveles más elevados de esta promueven mecanismos micobactericidas y por lo tanto menor tiempo de negativización de los cultivos.

Las limitaciones de este estudio son el tamaño de la población estudiada (a pesar de tener un protocolo de abordaje y seguimiento en todos los pacientes por ser un ensayo clínico no se logró contar con mayor número de pacientes ya que por condiciones laborales, de vivienda y otras condiciones no especificadas no quisieron participar en nuestro estudio), aun que es una muestra relativamente pequeña los datos arrojados apoyan a los que se encuentran en la literatura mundial.

12. CONCLUSIONES

- El tiempo medio de negativización del cultivo microbiológico fue menor en el grupo de VD con 35 días en comparación con el grupo de SVD con 45 días, sin embargo no lo fue en la negativización de la baciloscopia.
- Se deben realizar estudios prospectivos para analizar el metabolismo de la vitamina D en pacientes con tuberculosis pulmonar activa, a pesar que ambos grupos presentaban deficiencia (grupo SVD) e insuficiencia (grupo VD) en los niveles séricos de Vitamina D. En el grupo que recibió Vitamina D los niveles basales y al final de tratamiento fueron mas elevados, por lo que esta asociación pudiera contribuir a la mejora del sistema inmunológico y sus respuestas contra *Mycobacterium tuberculosis*.
- La suplementación con vitamina D como tratamiento coadyuvante al tratamiento convencional para la tuberculosis pulmonar sensible a fármacos de primera línea puede ser una opción viable en aquellos pacientes que presenten hipovitaminosis D.
- Se requiere mas ensayos controlados con mayor numero de población para apoyar nuestro estudio y determinar la relevancia de administrar Vitamina D en pacientes con hipovitaminosis D como tratamiento coadyuvante al tratamiento convencional para la Tuberculosis pulmonar.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. WHO: Global tuberculosis report: WHO report. Accessed August, 2014.
2. Norma Oficial Mexicana NOM-006-SSA2-2013, Para la prevención y control de la tuberculosis.
3. Jerwood S, Cohen J. Unexpected antimicrobial effect of statins. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61:362-4.
4. Singhal A, Jie L, Kumar P, Hong GS, et al. Metformin as adjunct antituberculosis therapy. *Sci Transl Med* 2014.
5. *Neumol Cir Torax* Vol. 70 - Núm. 4:252-260 Octubre-diciembre 2011 .
6. Martineau AR, Honecker FU, Wilkinson RJ, Griffiths CJ. Vitamin D in the treatment of pulmonary tuberculosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 793-798.
7. Martens G, Wilkinson RJ. Tuberculosis. *Lancet* 2007; 370: 2030-2043.
8. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-1773.
9. Antal AS, Dombrowski Y, Koglin S, Ruzicka T, Schaubert J. Impact of vitamin D3 on cutaneous immunity and antimicrobial peptide expression. *Dermatoendocrinol* 2011; 3: 18-22.
10. Sly LM, Lopez M, Nauseef WM, Reiner NE. 1alpha, 25-Dihydroxyvitamin D3-induced monocyte antimycobacterial activity is regulated by phosphatidylinositol 3-kinase and mediated by the NADPH-dependent phagocyte oxidase. *J Biol Chem* 2001; 276: 35482-35493.
11. Rockett KA, Brookes R, Udalova I, Vidal V, Hill AV, Kwiatkowski D. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a human macrophage-like cell line. *Infect Immun* 1998; 66: 5314-5321.
12. Rook GA, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmali R, O'Riordan J, et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology* 1986; 57: 159-163.
13. Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, Hanifa Y, Islam K, Claxton AP, et al. High-dose vitamin D (3) during intensive- phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 377: 242- 250.
14. Wejse C, Gomes VF, Rabna P, Gustafson P, Aaby P, Lisse IM, et al. Vitamin D as supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 843-850.
15. Nursyam EW, Amin Z, Rumende CM. The effect of vitamin D as supplementary treatment in patients with moderately advanced pulmonary tuberculous lesion. *Acta Med Indones* 2006; 38: 3-5.
16. Salahuddin N, Ali F, Hasan Z, Rao N, Aqeel M, Mahmood F, Vitamin D accelerates clinical recovery from tuberculosis: results of the SUCCINCT Study (Supplementary Cholecalciferol in recovery from tuberculosis). A randomized, placebo - controlled, clinical trial of vitamin D supplementation in patients with

- pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 22.
17. Morcos MM, Gabr AA, Samuel S, Kamel M, el Baz M, el Beshry M, et al. Vitamin D administration to tuberculous children and its value. *Boll Chim Farm* 1998; 137: 157-164.
 18. Yuk JM, Shin DM, Lee HM, Yang CS, Jin HS, Kim KK, et al. Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/ macrophages via cathelicidin. *Cell Host Microbe* 2009; 6: 231- 243.
 19. Vassiliki B, Huda A, Vincent M. Prevalence of Vitamin D deficiency in a London population diagnosed with active tuberculosis. *Endocrine Abstracts* 2008, 15: 17.
 20. Kim JH, Park JS, Cho YJ, Yoon HI, Song JH, Lee, CT, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D level: An independent risk factor for tuberculosis? *Clin Nutr.* 2013 pii: S0261-5614 (13) 00320-8.
 21. Jubulis J, Kinikar A, Ithape M, Khandave M, Dixit S, Hotalkar S, et al. Modifiable risk factors associated with tuberculosis disease in children in Pune, India. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014; 18:198–204.
 22. Ho-Pham LT, Nguyen ND, Nguyen TT, Nguyen DH, Bui PK, Nguyen VN, et al. Association between vitamin D insufficiency and tuberculosis in a Vietnamese population. *BMC Infect Dis.* 2010; 10:306.
 23. Hong JY, Kim SY, Chung KS, Kim EY, Jung JY, Park MS et al. Association between vitamin D deficiency and tuberculosis in a Korean population. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014; 1:73–78.
 24. Nnoaham KE, Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta- analysis. *Int J Epidemiol.* 2008; 37:113–119.

14. ANEXOS



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
ISMAEL COSÍO VILLEGAS



Cuestionario para Protocolo de:

“Efecto de la Vitamina D como Tratamiento coadyuvante en la evolución en pacientes con Tuberculosis pulmonar tratados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias”

México D.F. a ___ de _____ del 2016

Nombre: _____

Edad: ___ años. Sexo: ___ Edo. Civil: _____ . Lugar de Origen: _____

Lugar de Residencia _____ . Ocupación: _____ .

En su familia ó trabajo hay o hubo enfermos de tuberculosis pulmonar : _____ si
hubo especifique quien _____ y si recibió tratamiento: _____ .

Usted ¿Fuma o fumó? _____ ¿Cuánto tiempo? _____ #Cigarrillos al día _____

¿Hace cuánto dejo de fumar? _____ ¿Cocino con leña? _____ #hr/día _____ #años _____

¿Consumo bebidas alcohólicas? _____ ¿Desde qué edad las consume? _____

¿Qué tipo de bebida consume? _____ ¿Con que frecuencia las consume? _____

¿Qué cantidad consume? _____ . Consumo o consumió alguna droga: _____

¿Padece usted alguna de estas enfermedades:?

Diabetes Mellitus _____, Enfermedades del Corazón _____, Enfermedades de los riñones
(Insuficiencia renal) _____, Lupus Eritematoso Sistémico _____,
artritis: _____, Colitis _____, Cáncer: _____
Otra enfermedad _____ especifique: _____ .

¿Desde cuándo se siente enfermo? _____ . ¿Qué síntomas ha tenido? _____

Tos con expectoración _____, fiebre _____, Calosfríos _____, Pérdida de peso _____

¿Cuantos kg? _____ Toser Sangre: _____, Otro síntoma: _____

¿Le han dicho que usted padece tuberculosis pulmonar anteriormente? _____

¿Ha recibido tratamiento para esta enfermedad? _____ Especifique cual _____

Elaboro: _____



Efecto de la Vitamina D como Tratamiento coadyuvante en la evolución en pacientes con Tuberculosis pulmonar tratados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

CARTA DE CONSENTIMIENTO

Yo entiendo los propósitos de este estudio. Entiendo perfectamente los riesgos y beneficios al participar en este estudio.

Mi participación en este estudio es libre y voluntaria. No me he sentido en ningún momento presionado para tomar la decisión de participar.

Entiendo que también me están solicitando mi autorización para conservar el material biológico, que se obtenga de mis células de sangre. Este material será usado en futuras investigaciones para completar los objetivos del proyecto.

He leído todo este consentimiento, o alguien me lo ha leído, y considero que comprendo lo que se ha mencionado. Se respondió a todas mis preguntas sobre este consentimiento.

Mi firma y/mi huella al calce de esta hoja son mi consentimiento para participar en este estudio.

_____ Doy mi consentimiento para conservar muestras procedentes de mi sangre, para futuras investigaciones.

_____ No doy mi consentimiento para conservar muestras procedentes de mi sangre, para futuras investigaciones.

_____ Firma (voluntario) _____ Fecha

_____ Firma (Testigo) _____ Fecha

Dirección



Nombre (testigo)

Firma (Testigo)

Fecha

Dirección

ENTREVISTADOR/A

Yo he explicado los propósitos de este estudio al voluntario. El voluntario entendió los propósitos de este estudio, así como los riesgos y beneficios que conlleva su participación.

Nombre del Entrevistador

Firma (Entrevistador)

Fecha

Investigador

Nombre del Investigador

Firma (investigador)

Fecha