



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

MODELO EX VIVO DE RESPUESTA INMUNE CELULAR TH1 Y TH2 EN  
PACIENTES CON HIDATIDOSIS POR E. GRANULOSUS

EX VIVO ASSESSMENT OF TH1 AND TH2 CELLULAR IMMUNE  
RESPONSES IN PATIENTS WITH HYDATIDOSIS DUE TO E.  
GRANULOSUS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO  
PROFESIONAL MÉDICO CIRUJANO

AUTOR

SANTIAGO DIAZ GONZALEZ

ASESOR

LUIS MANUEL VALDEZ FERNANDEZ BACA

LIMA – PERÚ

2026



**ASESOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**ASESOR**

**DR LUIS MANUEL VALDEZ FERNANDEZ BACA**

Departamento Académico de Clínicas Médicas

ORCID: 0000-0002-4396-5676

**Fecha de aprobación: 03/03/2026**

**Calificación: Aprobado**

## **DEDICATORIA**

Dedicado a mis padres, amigos y maestros.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a quienes contribuyeron a mi formación académica y que me acompañaron a lo largo de este proceso

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Este proyecto no contó con financiamiento externo.

## **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS**

Los autores declaran no tener conflicto de interés

# DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El egresado:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	DIAZ GONZALEZ SANTIAGO

Pertenecientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA**, autor del trabajo titulado: **MODELO EX VIVO DE RESPUESTA INMUNE CELULAR TH1 Y TH2 EN PACIENTES CON HIDATIDOSIS POR E. GRANULOSUS** el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO** bajo la modalidad de **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**.


En calidad de docente asesor de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	VALDEZ FERNANDEZ BACA LUIS MANUEL	MEDICINA	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **12 %**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **trn:oid:::1:3506002977**; fecha de entrega: **13-03-2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 13 de marzo del 2026.**

  
LUIS MANUEL VALDEZ F.B.  
Enl. de Medicina - Mod. Integral  
C.M.P. 24093 R.N.E. 13222 - 13268

Firma del asesor  
N° DNI: 06352337  
ORCID: 0000-0002-4396-5676



## **TABLA DE CONTENIDOS**

<b>Resumen</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>I. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>II. Hipótesis o Preguntas de Investigación</b>	<b>4</b>
<b>III. Objetivos</b>	<b>5</b>
<b>IV. Metodología</b>	<b>6</b>
- Diseño	
- Población	
- Muestra	
- Variables	
- Descripción de procedimientos y métodos	
- Aspectos éticos	
- Análisis y procesamiento de datos	
<b>V. Resultados y/o productos esperados</b>	<b>11</b>
<b>VI. Conclusiones</b>	<b>12</b>
<b>VII. Referencias bibliográficas</b>	<b>13</b>
<b>Anexos</b>	<b>15</b>

## RESUMEN

**Antecedentes:** La infección por *Echinococcus granulosus* genera en el huésped intermedio una respuesta inmune inicial con predominio Th1 y una fase crónica con polarización Th2 y perfil regulador. En otras helmintiasis se ha descrito que esta modulación puede disminuir la producción de IFN- $\gamma$  y alterar la respuesta frente a *Mycobacterium tuberculosis*, afectando pruebas diagnósticas y potencialmente la respuesta vacunal. Se desconoce si estos mecanismos ocurren en la hidatidosis. El presente estudio evaluará ex vivo la respuesta Th1/Th2, citoquinas reguladoras y la proliferación celular en pacientes con y sin hidatidosis, planteando que *E. granulosus* atenúa la respuesta Th1 frente a antígenos micobacterianos. **Objetivo:** Comparar la respuesta inmune celular en dos grupos: pacientes sin infección por *E. granulosus* y pacientes con infección por *E. granulosus* a través de estimulación de células mononucleares de sangre periférica con BCG y PHA. Se medirán las citoquinas de los perfiles Th1 (IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4, IL-5) y reguladoras (IL-10, TGF- $\beta$ 1) y la capacidad de proliferación linfocitaria mediante un ensayo con CFSE. Los hallazgos se relacionarán con el tamaño del quiste hidatídico. **Materiales y métodos:** Estudio experimental de laboratorio. Se determinará la concentración de citoquinas de los perfiles Th1/Th2, citoquinas regulatorias y la capacidad de proliferación linfocitaria en muestras de células mononucleares de sangre periférica en ambos grupos tras ser estimulados con BCG y PHA. Las muestras se obtendrán mediante reclutamiento de pacientes en los servicios de Cirugía General y Cirugía de Tórax y Cardiovascular del Hospital Nacional Cayetano Heredia. El análisis de la citometría de flujo se hará mediante “LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite” y “FlowJo™ V10.8”. El análisis estadístico se hará en STATA versión 17.

**Palabras clave:** Hidatidosis, Célula Mononuclear de Sangre Periférica, Citoquinas

## ABSTRACT

**Background:** Infection with *Echinococcus granulosus* elicits an initial Th1-dominant immune response in the intermediate host, followed by a chronic phase characterized by Th2 polarization and a regulatory immune profile. In other helminth infections, this immunomodulation has been described as decreasing IFN- $\gamma$  production and altering the immune response to *Mycobacterium tuberculosis*, thereby affecting diagnostic test performance and potentially vaccine responses. Whether these mechanisms occur in hydatid disease remains unknown. This study will evaluate *ex vivo* the Th1/Th2 response, regulatory cytokines, and cell proliferation in patients with and without hydatid disease, based on the hypothesis that *E. granulosus* attenuates the Th1 response to mycobacterial antigens.

**Objective:** To compare the cellular immune response between two groups: patients without *E. granulosus* infection and patients with *E. granulosus* infection, through stimulation of peripheral blood mononuclear cells with BCG and PHA. Th1 (IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4, IL-5), and regulatory (IL-10, TGF- $\beta$ 1) cytokines, as well as lymphocyte proliferative capacity, will be measured using a CFSE assay. The findings will be correlated with hydatid cyst size.

**Materials and methods:** This is an experimental laboratory study. The concentrations of Th1/Th2 cytokines, regulatory cytokines, and lymphocyte proliferative capacity will be determined in peripheral blood mononuclear cell samples from both groups after stimulation with BCG and PHA. Samples will be obtained by recruiting patients from the General Surgery and the Thoracic and Cardiovascular Surgery departments of the Hospital Nacional Cayetano Heredia. Flow cytometry analysis will be performed using LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite and FlowJo™ v10.8. Statistical analysis will be conducted using STATA version 17.

**Keywords:** Hydatidosis, Peripheral Blood Mononuclear Cell, Cytokines

## I. INTRODUCCIÓN

La hidatidosis es una zoonosis producida por el estadio larval del helminto *E. granulosus sensu lato* (1). *E. granulosus sensu lato* se ha clasificado en 10 genotipos desde G1 a G10 que varían en su distribución geográfica, características morfológicas y huéspedes (2). En el Perú, el genotipo predominante de *E. granulosus* es el *E. granulosus sensu stricto* (G1) que afecta una gran proporción de animales ganaderos entre ovejas, ganado vacuno, cerdos y camélidos. (3,4).

En el intestino delgado del huésped definitivo, la forma adulta de *E. granulosus* produce proglótides grávidas que liberan huevos, los cuales se eliminan en las heces. Tras su ingesta por un huésped intermediario susceptible, los huevos eclosionan en el intestino delgado y liberan oncosferas que atraviesan la mucosa intestinal y se diseminan por vía hematógena hacia diversos órganos, principalmente el hígado y los pulmones. En estos órganos, las oncosferas forman quistes hidatídicos que aumentan de tamaño y producen protoescólices y quistes hijos en su interior (1).

Desde el punto de vista inmunológico, los helmintos se basan de distintos mecanismos para inducir una respuesta inmune celular predominantemente protectora en el huésped infectado (5,6). Esta consiste en el reclutamiento de linfocitos Th2 CD4+, colaboración de eosinófilos, basófilos, células linfoides innatas, diferenciación de linfocitos T vírgenes y modulación de la acción de células dendríticas y macrófagos para producir IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 durante la

infección (7). Asimismo, en las parasitosis crónicas, se evidencia menor producción de citoquinas tipo Th1 como IFN- $\gamma$  e IL-2 (8,9) y mayor producción de citoquinas reguladoras como TGF- $\beta$  (10) lo que favorece a esta respuesta protectora. En conjunto, las helmintiasis generan un entorno inmunológico polarizado hacia una respuesta Th2 junto a un componente regulador de la respuesta inflamatoria del huésped.

Se ha descrito la respuesta inmunológica del huésped intermediario humano contra *E. granulosus* en dos fases: una etapa temprana, previa al desarrollo del quiste hidatídico, y una etapa posterior a su formación. En la fase inicial predomina un patrón Th1 proinflamatorio, caracterizado por la secreción de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-2. Posteriormente, se superpone una respuesta Th2 reguladora, asociado a la producción de IL-4 e IL-5, la cual podría favorecer la cronicidad y el mantenimiento de la infección. En la segunda fase hay una transición hacia una respuesta predominantemente Th2 caracterizada por la mayor producción de citoquinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13 y una respuesta T-reguladora mediante la producción de IL-10 (2,11).

Estudios previos en humanos han descrito manifestaciones clínicas desfavorables en pacientes con coinfección por helmintos y *M. tuberculosis* (Mtb). Se reporta una disminución de linfocitos T CD4+, asociada a una reducción en la producción de IFN- $\gamma$  y a un aumento de IL-10. En consecuencia, se infiere que este patrón inmunomodulador podría facilitar la progresión hacia formas más avanzadas de la infección por Mtb. (12). Por otro lado, disminuyó la sensibilidad del PPD en

pacientes con helmintiasis pese a recibir tratamiento antihelmíntico previo. Proponen que el mecanismo en los no tratados se debe a mayor producción de TGF- $\beta$  (13). Las infecciones helmínticas también se han asociado con resultados indeterminados en los ensayos de liberación de IFN- $\gamma$  (IGRAs) en determinadas poblaciones (14,15). No obstante, otros estudios no han evidenciado una influencia significativa sobre la reactividad de la prueba cutánea de tuberculina (16). Asimismo, Salgame et. al hallaron que en recién nacidos de madres con helmintiasis hubo menor producción de IFN- $\gamma$  en respuesta a la vacuna BCG, lo cual podría conducir a menor protección inmune (17). En estos estudios se evidencia que las helmintiasis pueden promover enfermedad avanzada, alterar las pruebas diagnósticas y comprometer la inmunogenicidad de vacunas; sin embargo, no se centran en los mecanismos de *E. granulosus*.

A partir de la información recolectada, el estudio se enfocará en *E granulosus*. El objetivo es comparar la respuesta inmune celular en pacientes con y sin hidatidosis empleando un modelo ex vivo de coinfección en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) con vacuna BCG y PHA. Se busca evaluar la respuesta Th1/Th2, citoquinas regulatorias y proliferación celular mediante citometría de flujo y ensayo con CFSE. Así, se busca elucidar los efectos en la respuesta inmune ante la coinfección con *Mycobacterium* en pacientes con hidatidosis.

La hidatidosis es una enfermedad tropical desatendida y endémica en Perú. Se ha descrito mucho respecto al potencial inmunomodulador de los helmintos; sin embargo, persiste una brecha de información en los mecanismos mediante los

cuales *E. granulosus* modifica la respuesta inmune del huésped intermedio. Considerando que las helmintiasis polarizan la respuesta inmune hacia una respuesta celular Th2, se plantea la hipótesis de que *E. granulosus* es capaz de atenuar la respuesta Th1 dependiente de IFN- $\gamma$  frente a antígenos micobacterianos. De ser este el caso, se conocerá más sobre interacción helminto–micobacteria y los datos obtenidos complementarán la interpretación de pruebas diagnósticas, así como la eficacia de estrategias vacunales en poblaciones endémicas.

## II. HIPÓTESIS O PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- H0: *E. granulosus* no disminuye la respuesta celular en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) tras su estimulación *in vitro* con BCG y fitohemaglutinina (PHA); y no disminuye la capacidad de proliferación linfocitaria tras estímulo con BCG y PHA.
- H1: *E. granulosus* disminuye la respuesta celular en PBMCs tras su estimulación *in vitro* con BCG y PHA; y disminuye la capacidad de proliferación linfocitaria tras estímulo con BCG y PHA.

### III. OBJETIVOS

En este estudio se comparará la respuesta inmune celular en pacientes sin infección con *E. granulosus* (sanos) y con infección por *E. granulosus* a través de modelos ex vivo de coinfección estimulados con BCG y PHA. Se medirán las citoquinas de los perfiles Th1 (IFN- $\gamma$ ) y Th2 (IL-4, IL-5), citoquinas regulatorias (TFG-B, IL-10) y la capacidad de proliferación linfocitaria mediante un ensayo con CFSE.

#### Principal

- Comparar la respuesta inmune celular mediante un modelo ex vivo en PBMCs estimulados con BCG y PHA en pacientes sanos e infectados con *E. granulosus*.

#### Secundarios

- Comparar la concentración de citoquinas de los perfiles Th1 y Th2 tras la estimulación con BCG y PHA en los PBMCs de pacientes sanos e infectados con *E. granulosus*
- Comparar la concentración de citoquinas regulatorias tras la estimulación con BCG y PHA en los PBMCs de pacientes sanos e infectados con *E. granulosus*
- Comparar la capacidad de proliferación linfocitaria de pacientes sanos e infectados con *E. granulosus* tras estimulación con BCG y PHA mediante un ensayo de proliferación celular con CFSE
- Correlacionar el tamaño del quiste hidatídico con la concentración de citoquinas regulatorias, Th1, Th2 y la capacidad de proliferación linfocitaria

#### **IV. METODOLOGÍA**

Diseño: Experimental de laboratorio.

Población: Pacientes con infección por *E. granulosus* confirmada mediante ecografía o tomografía. Ver anexos para criterios de inclusión y exclusión.

##### Muestra

En este estudio no se considerará el cálculo del tamaño muestral, dado que se trata de un estudio piloto y se considerará a aquellos individuos que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

Se elegirán de manera aleatoria 40 muestras de PBMCs de la población total enrolada y serán divididos en dos grupos para desarrollar nuestros objetivos de investigación.

- Pacientes con hidatidosis: 20
- Pacientes sanos: 20

##### Variables

Ver anexos para cuadro de operacionalización de variables.

Descripción de procedimientos y métodos:

Se realizará reclutamiento de pacientes con diagnóstico de hidatidosis en los servicios de Cirugía General y Cirugía de Tórax y Cardiovascular del Hospital Nacional Cayetano Heredia. Tras obtener consentimiento informado de los pacientes, se extraerá sangre venosa periférica en tubos con EDTA y se realizará la extracción de PBMCs mediante el método de gradiente de densidad por Ficoll de ambos grupos (sanos y con hidatidosis).

En el laboratorio de inmunología del IMT-AvH las muestras serán subdivididas en 8 grupos para realizar los ensayos de estimulación. Los grupos serán los siguientes:

- PBMCs de pacientes con hidatidosis
  - Medición de citoquinas tras estimulación con BCG
  - Medición de citoquinas tras estimulación con PHA
  - Ensayo de proliferación linfocitaria con CFSE tras estimulación con BCG
  - Ensayo de proliferación linfocitaria con CFSE tras estimulación con PHA
- PBMCs de pacientes sanos
  - Medición de citoquinas tras estimulación con BCG
  - Medición de citoquinas tras estimulación con PHA
  - Ensayo de proliferación linfocitaria con CFSE tras estimulación con BCG
  - Ensayo de proliferación linfocitaria con CFSE tras estimulación con PHA

La estimulación de PBMCs se hará utilizando BCG y PHA a concentraciones ajustadas a la población celular determinados previamente por ensayo de ELISA para medición de IFN- $\gamma$ . Se incubarán en un medio estéril con CO<sub>2</sub> para cultivo celular con antibióticos. Posteriormente se realizará la medición de citoquinas y el ensayo de proliferación celular.

Las citoquinas serán medidas mediante citometría de flujo utilizando el kit LEGENDplex™ HU Th1/Th2 Panel (8-plex) w/ FP V02 y LEGENDplex™ Human Free Active/Total TGF- $\beta$ 1 Assay with V-bottom Plate de Biolegend®. La medición de citoquinas nos permitirá cuantificar la respuesta celular y orientará la identificación de linfocitos T CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> predominante.

La capacidad de proliferación linfocitaria se realizará a través del ensayo con CFSE utilizando el kit “CFSE Cell Division Tracker” de Biolegend®. Con ello podremos evaluar el efecto de *E. granulosus* sobre la capacidad proliferativa de la respuesta inmune celular.

Toda la información obtenida de la cuantificación de citoquinas y del ensayo de proliferación celular con CFSE será analizada mediante el programa LEGENDplex™ Data Analysis Software Suite y FlowJo™ V10.8.

### Aspectos éticos

Previo a su ejecución, el protocolo debe ser aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, así como Comité Institucional de Ética en Investigación Hospital Nacional Cayetano Heredia.

Los participantes serán reclutados mediante consentimiento informado durante su atención habitual. En este se detallarán los objetivos del estudio, procedimientos, posibles riesgos y beneficios, así como su derecho a rechazar o retirarse del estudio en cualquier momento sin que ello afecte su atención médica. La inclusión al estudio se realizará únicamente tras la firma del consentimiento informado.

Los datos de los pacientes en cuanto al diagnóstico de hidatidosis, sexo, edad y lugar de procedencia serán manejados mediante códigos para mantener la confidencialidad. Se regirá por los principios y lineamientos de la Declaración de Helsinki al involucrar muestras humanas.

### Análisis y procesamiento de datos:

Los datos se analizarán en el software STATA versión 17. Las variables cualitativas se describirán mediante porcentajes y frecuencias; mientras que, las variables numéricas con medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo al tipo de distribución que presenten. En caso de que presenten una distribución normal, se emplearán medias y desviaciones estándar. En caso contrario, se emplearán medianas y rango intercuartil.

Se presentarán las medias de las variables cuantitativas: capacidad de proliferación celular, tamaño de quiste hidatídico y concentración de citoquinas mediante Box-Plot.

Se realizará el análisis bivariado de la capacidad de proliferación linfocitaria, tamaño de quiste hidatídico, concentración de citoquinas entre las muestras de los PBMCs de los pacientes con hidatidosis y sanos estimulados con BCG y con PHA. Para ello, se empleará la prueba T-Student independiente en caso se cumplan los criterios de normalidad y la prueba U de Mann-Whitney en caso no se cumplan dichos criterios. Se tomará como nivel de significancia un  $p < 0.05$ .

Adicionalmente, se realizará el análisis bivariado de la capacidad de proliferación linfocitaria, tamaño de quiste hidatídico, concentración de citoquinas entre las muestras de los PBMCs de los pacientes con hidatidosis y sanos antes y después de la estimulación con BCG y PHA. Para ello, se empleará la prueba T-Student dependiente en caso se cumplan los criterios de normalidad y la prueba de Wilcoxon en caso no se cumplan dichos criterios. Se tomará como nivel de significancia un  $p < 0.05$ .

## V. RESULTADOS Y/O PRODUCTOS ESPERADOS

Si H0 es rechazada, esto podría favorecer la hipótesis que *E. granulosus* cuenta con la capacidad de modular la respuesta inmune hacia una respuesta Th2 regulatoria que disminuye la respuesta inflamatoria Th1. Se conoce que la respuesta Th1 se encarga de la eliminación de patógenos intracelulares, reacciones de hipersensibilidad, cambio de clase de inmunoglobulinas, propagación de la respuesta inmune celular y humoral, y la activación de macrófagos y de linfocitos T citotóxicos. Como tal, pacientes con infección por *E. granulosus* podrían estar predispuestos a infecciones por gérmenes intracelulares, menor respuesta inmune adaptativa, alteración de pruebas diagnósticas basadas en reacciones de hipersensibilidad y respuesta humoral, así como menor inmunogenicidad esperada por vacunación.

Si H0 no es rechazada, esto podría implicar que *E. granulosus* se basa de otras estrategias del parásito y su interacción con el huésped intermedio para modular la respuesta inmune. En este caso, podría considerarse la acción de productos excretorios/secretorios del helminto como inhibidores de la activación de células dendríticas y de receptores tipo Toll, así como su capacidad para inducir linfocitos T reguladores CD4+CD25+Foxp3+ independientemente de la producción de IL-10 (18).

## VI. CONCLUSIONES

El estudio permitirá explorar el impacto inmunomodulador de *E. granulosus* sobre la respuesta inmune celular frente a estímulos micobacterianos en una población endémica. Tras evaluar la respuesta Th1, Th2 y regulatorios a través de sus citoquinas y la capacidad proliferativa linfocitaria en un modelo ex vivo, se generará evidencia sobre la posible atenuación de la respuesta Th1 dependiente de IFN- $\gamma$  en pacientes con hidatidosis. La identificación del efecto inmunorregulador podrá ser base para la adecuada interpretación de pruebas inmunodiagnósticas y permitirá fortalecer estrategias vacunales en contextos endémicos. En sí, los hallazgos permitirán una mejor comprensión sobre los mecanismos inmunológicos que tiene *E. granulosus* sobre el huésped intermedio humano.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CDC - DPDx - Echinococcosis [Internet]. 2019 [citado 29 de enero de 2026]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/index.html>
2. Tamarozzi F, Mariconti M, Neumayr A, Brunetti E. The intermediate host immune response in cystic echinococcosis. *Parasite Immunology*. marzo de 2016;38(3):170-81. doi:10.1111/pim.12301
3. Sánchez E, Cáceres O, Náquira C, Garcia D, Patiño G, Silvia H, et al. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* from Peru by sequencing of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 gene. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105:806-10. doi:<https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000600013>
4. Sanchez L, Mayta H, Jara LM, Verástegui M, Gilman RH, Gómez-Puerta LA, et al. *Echinococcus granulosus sensu stricto* and *E. canadensis* are distributed in livestock of highly endemic area in the Peruvian highlands. *Acta Trop*. enero de 2022;225:106178. doi:10.1016/j.actatropica.2021.106178 PubMed PMID: 34627757.
5. McSorley HJ, Hewitson JP, Maizels RM. Immunomodulation by helminth parasites: defining mechanisms and mediators. *Int J Parasitol*. marzo de 2013;43(3-4):301-10. doi:10.1016/j.ijpara.2012.11.011 PubMed PMID: 23291463.
6. McKenzie ANJ, Spits H, Eberl G. Innate lymphoid cells in inflammation and immunity. *Immunity*. 18 de septiembre de 2014;41(3):366-74. doi:10.1016/j.immuni.2014.09.006 PubMed PMID: 25238094.
7. Grenis RK. Immunity to helminths: resistance, regulation, and susceptibility to gastrointestinal nematodes. *Annu Rev Immunol*. 2015;33:201-25. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120218 PubMed PMID: 25533702.
8. King CL, Mahanty S, Kumaraswami V, Abrams JS, Regunathan J, Jayaraman K, et al. Cytokine control of parasite-specific anergy in human lymphatic filariasis. Preferential induction of a regulatory T helper type 2 lymphocyte subset. *J Clin Invest*. octubre de 1993;92(4):1667-73. doi:10.1172/JCI116752 PubMed PMID: 8408619; PubMed Central PMCID: PMC288325.
9. Gaze S, Bethony JM, Periago MV. Immunology of experimental and natural human hookworm infection. *Parasite Immunol*. agosto de 2014;36(8):358-66. doi:10.1111/pim.12088 PubMed PMID: 25337625.
10. Babu S, Nutman TB. Immunopathogenesis of lymphatic filarial disease. *Semin Immunopathol*. noviembre de 2012;34(6):847-61. doi:10.1007/s00281-012-0346-4 PubMed PMID: 23053393; PubMed Central PMCID: PMC3498535.
11. Biranvand E, Rafiei A, Beiromvand M, Amari A, Bahraini A, Motamedfar A. Cytokine profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with

cystic echinococcosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. junio de 2020;70:101469. doi:10.1016/j.cimid.2020.101469

12. Resende Co T, Hirsch CS, Toossi Z, Dietze R, Ribeiro-Rodrigues R. Intestinal helminth co-infection has a negative impact on both anti-*Mycobacterium tuberculosis* immunity and clinical response to tuberculosis therapy. *Clin Exp Immunol*. enero de 2007;147(1):45-52. doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03247.x PubMed PMID: 17177962; PubMed Central PMCID: PMC1810442.
13. Elias D, Britton S, Aseffa A, Engers H, Akuffo H. Poor immunogenicity of BCG in helminth infected population is associated with increased in vitro TGF- $\beta$  production. *Vaccine*. julio de 2008;26(31):3897-902. doi:10.1016/j.vaccine.2008.04.083
14. Gebreegziabiher D, Desta K, Howe R, Abebe M. Helminth infection increases the probability of indeterminate QuantiFERON gold in tube results in pregnant women. *Biomed Res Int*. 2014;2014:364137. doi:10.1155/2014/364137 PubMed PMID: 24701572; PubMed Central PMCID: PMC3950403.
15. Thomas TA, Mondal D, Noor Z, Liu L, Alam M, Haque R, et al. Malnutrition and helminth infection affect performance of an interferon gamma-release assay. *Pediatrics*. diciembre de 2010;126(6):e1522-1529. doi:10.1542/peds.2010-0885 PubMed PMID: 21059723; PubMed Central PMCID: PMC3403682.
16. Zevallos K, Vergara KC, Vergara A, Vidal C, Garcia HH, Evans CA. Tuberculin Skin-Test Reactions Are Unaffected by the Severity of Hyperendemic Intestinal Helminth Infections and Co-Infections. *Am J Trop Med Hyg*. 5 de agosto de 2010;83(2):319-25. doi:10.4269/ajtmh.2010.10-0073 PubMed PMID: 20682875; PubMed Central PMCID: PMC2911178.
17. Salgame P, Yap GS, Gause WC. Effect of helminth-induced immunity on infections with microbial pathogens. *Nat Immunol*. noviembre de 2013;14(11):1118-26. doi:10.1038/ni.2736 PubMed PMID: 24145791; PubMed Central PMCID: PMC4955540.
18. Wang Y, Zhou H, Shen Y, Wang Y, Wu W, Liu H, et al. Impairment of dendritic cell function and induction of CD4+CD25+Foxp3+ T cells by excretory-secretory products: a potential mechanism of immune evasion adopted by *Echinococcus granulosus*. *BMC Immunol*. 13 de agosto de 2015;16:44. doi:10.1186/s12865-015-0110-3 PubMed PMID: 26268402; PubMed Central PMCID: PMC4535532.

## ANEXOS

### **1.1: Consentimiento informado**

**Estudio:** Modelo *ex vivo* de respuesta inmune celular Th1 y Th2 en pacientes con Hidatidosis por *E. granulosus*

Se le invita a participar en un estudio de investigación que evalúa la respuesta del sistema inmunológico en personas con diagnóstico de hidatidosis por *E. granulosus*

Su participación es completamente voluntaria. Se le invita a leer el siguiente documento y realizar todas las preguntas que considere necesarias.

#### **Objetivo del estudio**

Analizar cómo responde el sistema inmune de personas con hidatidosis frente a estímulos específicos en el laboratorio, comparándolo con personas sin la enfermedad.

#### **Participantes**

Se considera a personas que sean mayores de 18 años de edad, residan en zona endémica y que además cuenten con una de las siguientes características

1. Diagnóstico confirmado de hidatidosis mediante ecografía o tomografía
2. Sin hidatidosis que cumpla criterios para formar parte del grupo control

#### **¿En qué consiste mi participación?**

Si acepta participar:

- Se le extraerá una muestra de sangre venosa periférica (aproximadamente 12 mL).
- La muestra será procesada para aislar células del sistema inmune (PBMCs).
- Estas células serán estimuladas en el laboratorio con sustancias llamadas BCG y PHA para evaluar:
  - Producción de citoquinas
  - Capacidad de proliferación linfocitaria

No se le administrará ninguna de las sustancias mencionadas en su cuerpo. Todos los procedimientos se realizan únicamente en laboratorio sobre su muestra de sangre.

La toma de muestra durará aproximadamente 2-3 minutos.

#### **Riesgos potenciales**

Al aceptar realizar la extracción de sangre, puede presentar los siguientes:

- Común:
  - Leve dolor en el sitio de punción
  - Moretón

- Raro: Mareo transitorio
- Muy raro: Infección local

No existen riesgos adicionales, ya que los experimentos se realizan fuera de su cuerpo

### **Beneficios**

Usted no recibirá un beneficio directo por participar.

Sin embargo, los resultados podrían contribuir a mejorar el conocimiento científico sobre la respuesta inmunológica en la hidatidosis y su interacción con otras infecciones.

### **Confidencialidad**

Se solicitará la siguiente información: edad, sexo, presencia o ausencia de hidatidosis. Toda esta información será codificada mediante un número. No se registrará su nombre en las bases de datos de análisis. Solo los investigadores tendrán acceso a la información identificable.

Los resultados podrán publicarse en revistas científicas, pero sin revelar su identidad.

### **Almacenamiento y uso futuro de muestras**

En caso estar de acuerdo, marcar una de las siguientes casillas:

- Sus muestras serán utilizadas únicamente para este estudio y luego serán eliminadas.
- Sus muestras podrán almacenarse de manera codificada para estudios futuros relacionados con enfermedades infecciosas e inmunología.

Si acepta almacenamiento:

- Las muestras estarán codificadas.
- Usted podrá retirar su consentimiento antes de que las muestras sean completamente anonimizadas.

### **Información adicional**

1. Su participación es voluntaria.
2. Puede retirarse en cualquier momento sin afectar su atención médica actual o futura en el Hospital Nacional Cayetano Heredia.
3. No tendrá ningún costo por participar
4. No se otorgará pago por su participación
5. La atención médica habitual no se verá afectada

### **Contacto**

Investigador principal: **Santiago Díaz González**

Teléfono: [REDACTED]

Correo electrónico: [REDACTED]

Comité de Ética en Investigación:  
 Universidad Peruana Cayetano Heredia  
 Contacto: [duari.orvei@oficinas-upch.pe](mailto:duari.orvei@oficinas-upch.pe)

## Declaración de consentimiento

He leído (o me han leído) la información anterior.  
 He tenido la oportunidad de hacer preguntas y estas han sido respondidas satisfactoriamente.

Entiendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme en cualquier momento sin consecuencias en mi atención médica.

- Acepto participar en este estudio.  
 No acepto participar.

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

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

Nombre del investigador que obtiene el consentimiento:

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

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

## 2.1: Presupuesto

### Presupuesto (Financiamiento propio)

Equipos y Bienes Duraderos	Cantidad	Costo Unitario (S./.)	Total (S./.)
Laptops	1	3000.0	3,000.00
Citometro de flujo	1	111900.0	111,900.00
STATA 16 (por año)	1	665.9	665.88
FlowJo™ V10.8 (por año)	1	1058.4	1,058.43
<b>TOTAL</b>			<b>116,624.31</b>

Materiales e Insumos	Cantidad	Costo Unitario (S./.)	Total (S./.)
LEGENDplex™ HU Th1/Th2 Panel (8-plex) w/ FP V02 +	1	8,490.00	8,490.00
LEGENDplex™ Human Free Active/Total TGF-β1 Assay	1	3397.0	3,397.00
CFSE Cell Division Tracker Kit	1	730.0	730.00
Vacunas BCG Contra Tuberculosis	5	80.0	400.00
PHA-L (5mg)	1	1650.0	1,650.00
Mascarillas KN° 95 (caja de 20 unidades)	3	18.00	54.00
Alcohol Gel 70% 1L	1	25.0	25.00
Gautes de nitrilo (caja de 100 unidades)	2	55.0	110.00
Materiales de laboratorio	1	500.0	500.00
<b>TOTAL</b>			<b>15,356.00</b>

Servicios y Consultorías	Cantidad	Costo Unitario (S./.)	Total (S./.)
No aplica			
<b>TOTAL</b>			<b>0.00</b>

Asistentes de Investigación (no aplican fondos)	Cantidad	Costo Unitario (S./.)	Total (S./.)
No aplica			
<b>TOTAL FINANCIAMIENTO EXTERNO</b>			<b>131,980.31</b>

## 2.2: Cronograma de Actividades

Actividades	Meses																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>Plan y diseño</b>																		
Desarrollar propuesta de investigación																		
Establecer presupuesto y manejo financiero																		
Aprobación del comité de ética																		
<b>Recolección y procesamiento de datos</b>																		
Procesar las muestras																		
<b>Análisis de datos</b>																		
Análisis cuantitativo																		
Análisis cualitativo																		
<b>Redacción del informe final</b>																		
<b>Publicación</b>																		
Buscar revista y ajustar a formato de revista																		
Enviar manuscrito																		
Aceptación de manuscrito																		

## 3.1: Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:	Criterios de exclusión:
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Evidencia de hallazgos ecográficos o tomográficos para hidatidosis por <i>E. granulosus</i></li> <li>● Adultos entre 18 y 100 años</li> <li>● Residencia &gt; 2 años en las comunidades previamente identificadas como altamente endémicas</li> <li>● Aquellos capaces y dispuestos a proporcionar muestras de sangre para pruebas</li> <li>● Sujetos que posean <math>\geq 1</math> especies de ganado (bovino, ovino, porcino, caprino, equino, etc.)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Sujetos tratados para helmintiasis en los últimos 12 meses</li> <li>● Sujetos que viven en áreas urbanas de estos distritos</li> <li>● Sujetos que planean mudarse o con ocupaciones que pueden requerir que abandonen el área por más de 3 meses</li> </ul>

## 3.2: Cuadro de operacionalización de variables

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Definición operacional	Dimensiones/categorías	Fuente de recolección de datos

Edad	Cuantitativo	De razón	Tiempo transcurrido desde el nacimiento en años según el DNI	-	Base de datos
Sexo	Cualitativa	Nominal Politémica	Sexo según DNI	Femenino  Masculino	Base de datos
Estado de infección por <i>E. granulosus</i>	Cualitativo	Nominal	Presencia de infección por <i>E. granulosus</i>	Pacientes con Hidatidosis: Evidencia de hallazgos ecográficos o tomográficos compatibles para hidatidosis por <i>E. granulosus</i>  Sanos: Ausencia de evidencia de hallazgos ecográficos compatibles para hidatidosis por <i>E. granulosus</i>	Ecografía de abdomen y Tomografía computarizada de Tórax
Tamaño de Quiste Hidatídico	Cuantitativo	De razón	Tamaño en milímetros según medición por ecografía de abdomen o tomografía computarizada de tórax	Milímetros	Ecografía de abdomen y Tomografía computarizada de tórax

Concentración de citoquinas (IL-5, IL-13, IL-2, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4)	Cuantitativo	De razón	Índice de fluorescencia media (MFI) expresado como concentración de citoquinas producidas por PBMCs (pg/mL)	-	Citómetro
Capacidad de proliferación linfocitaria	Cuantitativo	De razón	Divisiones celulares detectadas mediante emisión de fluorescencia captada por citometría de flujo	-	Citómetro

---