



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE METALOPROTEINASAS DE LA
MATRIZ EXTRACELULAR (MMPs) Y SUS PRODUCTOS DE
DEGRADACIÓN (MDPs) ESTÁN ASOCIADOS A NIVELES DE
GLICEMIA EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS ACTIVA**

EXPRESSION OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR
DEGRADATION PRODUCTS ARE ASSOCIATED WITH BLOOD GLUCOSE
LEVELS IN PATIENTS WITH ACTIVE TUBERCULOSIS

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO**

ALUMNO
RONALD ARMANDO CADILLO HERNANDEZ

ASESOR
CESAR AUGUSTO UGARTE GIL

CO- ASESOR
MARTIN MONTES DELGADO

LIMA - PERÚ

2022

JURADO

Presidente:	Dra. Coralith Marlinda Garcia Apac
Vocal:	Dra. Karla Beatriz Tafur Bances
Secretario:	Dra. Ana Maria Quintana Aquehua

Fecha de Sustentación:	25 de julio del 2022
------------------------	----------------------

Calificación:	Aprobado con honores
---------------	----------------------

ASESORES DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

ASESOR

Dr. Cesar Augusto Ugarte Gil

Departamento Académico de Medicina

ORCID: 0000-0002-2833-9087

CO-ASESOR

Dr. Martín Montes Delgado

Departamento Académico de Medicina

ORCID: 0000-0002-7427-347X

DEDICATORIA

A Juan Felipe Flores y a Gabriela Villanueva, maestros que me inculcaron la pasión por leer, reflexionar y cuestionar.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, asesores y mentores, por su apoyo y motivación constante.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Fondo de apoyo a la investigación FAMED-UPCH 2017

No se ha efectuado pagos a participantes del estudio

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
III. MATERIALES Y MÉTODOS	5
IV. RESULTADOS	9
V. DISCUSIÓN	13
VI. CONCLUSIONES	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS	27

RESUMEN

Antecedentes: Dentro de los factores que intervienen en la degradación y remodelación del tejido pulmonar por tuberculosis (TB) se encuentran las MMPs, MDPs y TIMPs. Asimismo, se sabe que la hiperglicemia conlleva a mayor riesgo de fracaso en el tratamiento de TB. La hiperglicemia podría mediar la actividad de dichos biomarcadores de forma indirecta mediante el incremento del estrés oxidativo, que puede ser cuantificado mediante la expresión de HO-1. **Materiales y Métodos:** estudio piloto de tipo descriptivo. Se midió la concentración de los biomarcadores en muestras de lavado bronco-alveolar (BALF) utilizando ELISAs y Luminex®. Se realizó análisis univariado mediante SPSS Statistics-26®. **Objetivo:** Comparar los niveles de MMPs, MDPs, TIMPs y HO-1 en BALF de pacientes con TB e hiperglicemia y pacientes con TB normoglicémicos y evaluar la asociación entre la hiperglicemia y estrés oxidativo con dichas variables. **Resultados:** El grupo con TB-Hiperglicemia presentó mayor presencia de cavernas comparado al grupo TB-Normoglicemia. La concentración media de MMP-1 (85.5 pg/ml) y PIIIN (4.5 ng/ml) fue mayor en el grupo de TB-Hiperglicemia ($p=0.715$ y 0.114 respectivamente). En el análisis de clúster jerárquico, el único grupo que logra formar un clúster es el de TB-Hiperglicemia. Finalmente, el grupo TB-Hiperglicemia y TB-Normoglicemia presentaron mayor número de correlaciones entre los biomarcadores estudiados ($p<0.05$). **Conclusiones:** Existe una elevación de biomarcadores inflamatorios tales como MMPs, MDPs, TIMP y HO-1 en muestras de BALF, y dicho perfil de expresión se asocia a su estatus diagnóstico de TB y su estatus glicémico.

Palabras claves: Tuberculosis, Metaloproteinasas de la Matriz, Hiperglicemia

ABSTRACT

Background: Among the factors involved in degradation and remodeling of lung tissue as part of tuberculosis infection include MMPs, MDPs and TIMPs. Likewise, it is known that hyperglycemia leads to an increased risk of failure of TB treatment. Hyperglycemia could indirectly mediate the expression of these biomarkers by increasing oxidative stress, which can be quantified by HO-1 activity. **Material and Methods:** Descriptive pilot study. The concentration of biomarkers in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples was evaluated using ELISAs and Luminex®. Univariate analysis was performed using SPSS Statistics-26® **Objective:** Compare the levels of MMPs, MDPs, TIMPs and HO-1 in BALF of TB patients with hyperglycemia and TB patients with normoglycemia and evaluate the association between hyperglycemia and oxidative stress with these variables. **Results:** TB-Hyperglycemia group presented more pulmonary caverns compared to TB-Normoglycemia group ($p=0.248$). The mean concentration of MMP-1 (85.5 pg/ml) and PIIIN (4.5 ng/ml) was higher in TB-Hyperglycemia group ($p=0.715$ and 0.114 , respectively). In the hierarchical cluster analysis, the only group that manages to form a cluster is TB-Hyperglycemia. Finally, TB-Hyperglycemia and TB-Normoglycemia groups presented more correlations between the studied biomarkers ($p<0.05$). **Conclusions:** There is an elevation of inflammatory biomarkers such as MMPs, MDPs, TIMP and HO-1 in BALF samples, and this expression profile is associated with their diagnostic status of TB and their glycemic status.

Keywords: Tuberculosis, Matrix Metalloproteinases, Hyperglycemia

I. INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis (TB) es una de las principales causas de muerte en el mundo(1). Más del 95% de las muertes por TB se producen en países de bajos y medios ingresos(2). Según la Organización Mundial de Salud (OMS), en el 2021, 9.9 millones de personas se enfermaron con TB y 1.5 millones murieron por esta infección. Esta alta prevalencia de la enfermedad, es debido a la transmisión eficaz que posee *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb)(1). La TB es una infección bacteriana causada por Mtb que compromete a los pulmones principalmente, pero también puede infectar otros órganos (3).

La respuesta inmune local del huésped consiste en la formación del granuloma, el cual es una estructura que rodea y mantiene en estado de latencia al Mtb (3). El tiempo en que permanezca en este estadio depende de múltiples factores, pero principalmente del estado del sistema inmune del huésped(3). En el momento en que las defensas del huésped estén alteradas debido a la senescencia del sistema inmunológico, o se encuentren suprimidas, como ocurre en patologías como diabetes o el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la Mtb puede reactivarse y conducir a la destrucción de la matriz extracelular del tejido pulmonar, provocando daño tisular y cavitaciones (3,4).

Durante los últimos años, se han realizado múltiples estudios sobre los factores que intervienen en la degradación tisular durante la infección por Mtb. Uno de los más importantes, es la producción de las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) por las distintas células que componen el granuloma (5–7). Las MMPs son proteasas dependientes de zinc, que se encargan de regular la remodelación y reparo de los componentes de la matriz extracelular (8). Estas

pueden ser clasificadas según el tipo de tejido sobre el cual tienen acción, tales como colagenasas (MMP-1 y MMP-8), gelatinasas (MMP-2 y MMP-9) estromielinasas (MMP-3 y MMP-10) y elastasas (MMP-7 y MMP-12). El conocimiento que se tiene sobre su mecanismo de acción, así como su relación durante los procesos inflamatorios e infecciosos es reciente.

Se ha encontrado evidencia que demostraría el rol de MMPs en la degradación de la matriz pulmonar (9–11) y en la activación y migración de células inmunes hacia el sitio de infección (10–14), importante para la formación del granuloma. En modelos *in vitro*, demuestran que macrófagos, monocitos y fibroblastos al ser estimulados por Mtb, incrementan la expresión de MMP-1, 3, 8, 9 y 10 (6,9,11,12,14,15). Los niveles de MMPs varían de distinta manera a lo largo de la infección y están sujetas a la concentración de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMPs) (6). En un estudio se analizó la expresión de MMPs en el lavado bronco alveolar (BALF) de pacientes con TB en tratamiento y demostraron que el tratamiento poseía un efecto modulador en la expresión de las MMPs(16). Otro estudio analizó las concentraciones de MMPs en muestras de esputo inducido de pacientes con TB, encontrándose que los niveles de MMP-1, 3 y 8 no se reducen del todo al final del tratamiento (16), lo cual podría explicar la presencia de limitaciones en la función pulmonar a pesar del tratamiento contra la TB.

La actividad de las MMPs puede ser medida mediante el análisis de sus productos de degradación de la matriz (MDPs). Procolágeno III N-terminal (PIIIN) es un MDP que se encontró elevado en esputo inducido y plasma de pacientes con TB, estando correlacionado con un incremento de MMP-8 (20). El incremento de

ambos factores estuvo asociado al estado de destrucción del tejido pulmonar, por lo que se utilizó como marcador diagnóstico de TB con una sensibilidad del 89.5% y una especificidad del 65% (17).

Uno de los factores que podrían estar afectando esta respuesta inmune es la glicemia de los pacientes con TB. Existe evidencia que los pacientes con reciente diagnóstico de TB, desarrollan una hiperglicemia transitoria, la cual está asociada a un riesgo en fracasar en el tratamiento de TB (OR=3.33 [CI 1.38-8.06](18). También existe evidencia que demuestra que los pacientes con la comorbilidad TB -Diabetes (DM) tienen peor resultado al tratamiento y una presentación clínica más severa(19). En un estudio, se encontró que la hiperglicemia incrementó los niveles de citoquinas proinflamatorias producidas por macrófagos estimulados con Mtb in vitro (23). Esta alteración podría estar asociada a la sobreproducción de especies reactivas de oxígenos (ROS), generando estrés oxidativo, que desencadena un mal funcionamiento celular y posible daño tisular exacerbado (21). En otro estudio, se analizaron los niveles de estrés oxidativo, mediante la medición de heme oxigenasa 1(HO-1), y MMP-1, y se encontró que la HO-1 tenía la capacidad de regular a la MMP-1 sugiriendo que podría tener efectos en la degradación tisular pulmonar en la infección por TB (22).

Debido a que aún existe vacíos en la fisiopatología de la TB (específicamente en la relación de la degradación tisular y el rol de la glicemia) este estudio tiene como propósito evaluar si la hiperglicemia y el estrés oxidativo conducen a una mayor degradación de la matriz pulmonar que se verá reflejada en los niveles de MMPs, MDPs y TIMPs en BALF. Como se mencionó anteriormente, la mayoría de estudios realizados respecto a los mediadores de la degradación

tisular en la infección por Mtb se han realizado en muestras de plasma y esputo inducido, por lo que utilizar BALF permitirá estimar de forma más precisa lo que ocurre a nivel pulmonar. La evidencia que este estudio busca evaluar es importante como información preliminar en la búsqueda de biomarcadores que permitan evaluar el éxito de tratamiento contra la TB.

II. OBJETIVOS

- Comparar los niveles de MMPs, MDPs, TIMPs y HO-1 en BALF de pacientes con TB con hiperglicemia y pacientes con TB sin hiperglicemia.
- Evaluar la asociación entre hiperglicemia y estrés oxidativo con los valores de MMPs, MDPs y TIMPs en las muestras de BALF de los pacientes con TB.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: El presente estudio es un estudio piloto de tipo descriptivo que evalúa los niveles basales de MMPs, MDPs, TIMPs, glicemia y estrés oxidativo en muestras de lavado bronco-alveolar.

Población: Individuos mayores de 18 años con sospecha de diagnóstico de TB, provenientes del servicio de Neumología del Hospital Cayetano Heredia (HCH) que fueron programados para la realización de una broncoscopia para la obtención de lavado bronco-alveolar (BALF) por fines diagnósticos.

Muestra: Los criterios utilizados para seleccionar la muestra a partir de la población descrita fueron:

- Individuos mayores a 18 años.
- Pacientes con TB: Aquellos pacientes que tengan un diagnóstico confirmatorio (cultivo y/o biopsia) compatible con tuberculosis
- Grupo control: Aquellos individuos que en el cultivo y la biopsia no son compatibles con tuberculosis.

Como criterio de exclusión los sujetos no presentaban anemia severa ($Hb < 7$ g/dl)

Tamaño muestral: Al no haber mucha evidencia disponible sobre rol de MMPs, MDPs y glicemia, no se pudo hacer un cálculo muestral. Asimismo, realizar una broncoscopia para la extracción de BALF para el diagnóstico de TB no es un procedimiento rutinario. Por estas razones, se planteó este estudio como piloto para ver su factibilidad y brinde la información necesaria para hacer el cálculo de tamaño de muestra requerido en estudios más grandes en el futuro. El total de paciente enrolados fue 12 pacientes con TB y 18 controles.

Definición de variables (Ver anexo para más detalles): La variable dependiente fue la “expresión de MMPs”, la variable independiente fue “Glicemia del paciente” y las covariables: fueron “Expresión de MDPs, TIMPs, Perfil oxidativo”

Procedimientos y Técnicas

Recolección y procesamiento del BALF: Una vez terminada la fibrobroncoscopia, se extraía una muestra mínima de 3ml del volumen total del lavado bronchoalveolar. Se movilizaban las muestras al laboratorio de tuberculosis en el IMT-UPCH, donde eran filtradas y esterilizadas a través de una membrana 0.2 μ m (Millipore) para ser alicuotadas y congeladas a -80°C.

Perfil de MMPs, TIMP-1, PIIIN y HO-1: Las muestras de BALF fueron analizadas utilizando el protocolo descrito por R&D systems (LMP008) para la evaluación de MMPs usando el Multiplex Performance Essay (Luminex©). Este inmunoensayo utiliza los principios de flujometría para medir de forma simultánea distintos metabolitos en una sola muestra. Las MMPs analizadas fueron MMP-1, MMP-3, MMP-8 y MMP-9. Los valores mínimos de detección fueron 23 pg/ml, 77 pg/ml, 84 pg/ml y 118.3 pg/ml respectivamente.

La TIMP evaluada fue TIMP-1 y fue analizada utilizando el protocolo de ELISA descrito por R&D systems (DY970-05) siendo el valor mínimo de detección de 31.25 pg/ml.

El MDP evaluado fue el PIIIN, para el que se realizó una prueba de ELISA siguiendo el protocolo descrito en el kit de Cloud-Clone Corp. (SEA573Hu) cuyo valor mínimo de detección fue de 6.25 ng/ml. De la misma manera, la expresión de HO-1 fue analizada utilizando el protocolo de ELISA descrito en el kit de Cusabio (CBS-E08266h) siendo el valor mínimo de detección 15.6 ng/ml.

Todos los procedimientos descritos fueron realizados en la Universidad Peruana Cayetano Heredia y en el laboratorio de inmunología del IMT-UCPH.

Perfil Glicémico: Se realizó mediante la prueba de Hemoglobina Glicosilada (Hb1Ac) en el laboratorio clínico Medlab.

Aspectos éticos del estudio: El protocolo y el consentimiento informado del presente estudio fueron presentados y aprobados por el Comité de Ética Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y del Hospital Cayetano Heredia. Se aseguró la confidencialidad a los pacientes mediante la codificación numérica de las fichas y las muestras biológicas. Se les solicitó a los participantes almacenar dichas muestras por 10 años para estudios futuros relacionados a la inmunidad en pacientes con TB y/o en estudios genéticos de las cepas aisladas de Mtb. Toda la información recopilada fue trabajada en computadoras a la que solo el equipo investigador y solo el personal de investigación autorizado tendrá acceso. Como parte del estudio, se brindó los resultados de hemoglobina glicosilada al paciente.

Plan de análisis: Para el análisis estadístico, los datos sin identificadores personales fueron colectados de 30 personas, y almacenados en el Excel® para luego ser procesados en el programa IBM SPSS Statistics 26®. Las variables cualitativas fueron descritas con porcentajes y para compararlas se utilizó el test Chi – cuadrado. Se evaluó la distribución gaussiana mediante el test de Shapiro-Wilk. Las variables continuas fueron descritas con medidas de tendencia central de acuerdo a su distribución no normal (medianas y rangos intercuartiles).

La población del estudio fue clasificada de acuerdo al estatus diagnóstico de tuberculosis y a su estatus glicémico, usando el parámetro de hemoglobina

glicosilada (HbA1c). Aquellos pacientes con HbA1c > 5.7 fueron clasificados en el grupo con hiperglicemia (parámetro indicado por la Asociación Americana de Diabetes)(23). Dicha clasificación resultó en los siguientes cuatro grupos: TB – Hiperglicemia, TB – Normoglicemia, No TB – Hiperglicemia y No TB – Normoglicemia.

En el análisis univariado, se comparó la expresión de MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-9, TIMP-1, HO-1 en los cuatro grupos de estudio. Para comparar dicha expresión se realizó la prueba de Kruskal-Wallis. Para evaluar la correlación entre los biomarcadores en los distintos grupos se realizó la prueba de Rho de Spearman y se utilizó una matriz de correlación para mostrar nuestros resultados.

Se identificó 1 paciente con datos faltantes en el análisis de la MMP-1, 11 pacientes en el análisis de MMP-8 y 9 pacientes en el análisis de MMP-9. Estos datos faltantes fueron producto la expresión de las MMPs en cuestión, las cuales se encontraron por debajo del rango de detección del Multiplex ELISA(Luminex©).

Finalmente, se realizó un análisis de clúster jerárquico (Método de Ward) y un mapa de calor para identificar los perfiles de expresión de los distintos biomarcadores en los sujetos de estudio. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de significancia estadística $p < 0,05$.

IV. RESULTADOS

Datos demográficos:

La tabla 1 muestra las características demográficas de los sujetos de estudio. Se enroló un total de 30 individuos. La distribución de los participantes según sexo, el 50% eran mujeres. La mediana de edad fue 43 años para el grupo TB – Hiperglicemia (IIC32-63), mientras que para el grupo TB – Normoglicemia fue 28 años (IIQ26-46).

En el grupo de No TB-Hiperglicemia, 3 de 12 pacientes (25%) presentaron el diagnóstico previo de Diabetes Mellitus tipo 2; mientras que para los grupos de TB-Hiperglicemia y No TB-Normoglicemia fue de 1 paciente (17%) para cada grupo respectivamente.

Respecto al compromiso pulmonar, en el grupo TB – Hiperglicemia 3 de 6 pacientes (50%) presentaron compromiso bilateral y el resto (50%), compromiso unilateral. Por otro lado, los 6 pacientes (100%) del grupo TB-Normoglicemia presentaron compromiso unilateral.

Respecto al número de cavernas, 4 de 6 pacientes (67%) del grupo TB – Hiperglicemia tuvo la presencia de al menos una caverna, mientras que 4 de 6 pacientes (67%) del grupo TB-Normoglicemia no presentó ninguna caverna ($p=0.248$) (Ver Figura 1)

Expresión de las MMPs

La distribución en la expresión de las MMPs evaluadas en los grupos de estudio se muestran en la figura 2.

La concentración media de MMP-1 muestra la mayor mediana de 85,5 pg/ml en el grupo TB – Hiperglicemia respecto al resto de grupos ($p=0,715$). Por otro lado, la expresión de MMP-1 en el grupo de No TB – Hiperglicemia y No TB – Normoglicemia es menor con una mediana de 39.3 pg/ml para ambos grupos.

Al evaluar los niveles de MMP-3, estos presentaron un aumento no significativo con una mediana de 207.4 pg/ml para el grupo TB – Normoglicemia en oposición al grupo No TB – Normoglicemia con una mediana de 116.6 pg/ml ($p=0.176$).

La expresión de MMP-8 se encuentra elevada en el grupo No TB – Normoglicemia con una mediana de 56547.7 pg/ml y en el grupo No TB – Hiperglicemia con una mediana de 15914.2 pg/ml ($p=0.601$) comparado con los otros grupos.

Los niveles de MMP-9 en el grupo No TB – Normoglicemia presenta la mayor mediana con 19230.8 pg/ml, seguida del grupo TB – Hiperglicemia con una mediana de 7773.1 pg/ml ($p=0.878$).

Expresión de TIMP-1

El nivel de expresión de TIMP-1 en 2 distintas diluciones se muestran en la Figura 2. La expresión de TIMP-1 en la dilución 1/10 y 1/40 presentan un incremento en el grupo de No TB- Normoglicemia con una mediana de 10163.4 pg/ml y 11912,2 pg/ml respectivamente ($p=0.438$ y $p=0.381$). Es interesante mencionar que en los pacientes del grupo TB – Hiperglicemia y No TB – Hiperglicemia presentaron los menores valores de TIMP-1 (1/40) con una mediana de 3398,8 pg/ml y 1668,3 pg/ml respectivamente. ($p=0.381$).

Expresión de PIIIN

La expresión de PIIIN y como se distribuye este marcador en los grupos de estudio se muestran en la Figura 2. El PIIIN presenta un incremento en el grupo TB – Hiperglicemia con una mediana de 4,5 pg/ml. Por el contrario, en los grupos TB – Normoglicemia y No TB – Normoglicemia, presenta medianas con valores menores de 3,8 pg/ml y 3,9 pg/ml respectivamente ($p=0.114$)

Expresión de HO1

La distribución en la expresión de HO-1 se muestra en la figura 2. La HO1 muestra un incremento no significativo en el grupo No TB – Hiperglicemia con una mediana de 551,5 ng/ml ($p=0.526$)

Análisis de clúster jerárquico y mapa de calor (Figura 3)

A través de este análisis exploratorio, es importante resaltar que al comparar el perfil de expresión de los biomarcadores estudiados en los grupos TB-Hiperglicemia y TB-Normoglicemia, estos logran agruparse casi por completo (Figura 2A). Además, al realizar el mismo análisis, pero comparando los cuatro grupos, se puede observar que solo el grupo TB – Hiperglicemia continúa presentando un perfil de expresión que forma un conglomerado (Figura 2B).

Matriz de correlación

En la Figura 4, el grupo de TB – Hiperglicemia presenta el mayor número de correlaciones positivas entre la HbA1c y los otros biomarcadores ($p < 0.05$). En este mismo grupo, se destaca que los niveles de MMP-3 muestran una alta correlación positiva con la HbA1c y con la expresión de TIMP-1(1/10) con un

rho de 0.86 y 0.98 respectivamente ($p < 0.05$). Además, la expresión del PIIIN se correlaciona de forma positiva con los niveles de MMP-1 y TIMP-1 (1/10) con un rho de 0.93 y 0.81 respectivamente ($p < 0.05$).

En el grupo TB – Normoglicemia, los niveles del MMP-1 y MMP-3 presentan correlación positiva con un coeficiente de correlación (rho) de 0,87 ($p < 0.05$). A su vez, la expresión de MMP-9 muestra correlación positiva con los niveles de PIIIN y TIMP-1 (1/40) con un rho de 0.9 ambos casos ($p < 0.05$)

En el grupo No TB – Hiperglicemia, la expresión de MMP-9 y TIMP-1 (1/10) presentan una correlación positiva con un rho de 0.79 ($p < 0.05$).

En el grupo No TB – Normoglicemia, los niveles de PIIIN y TIMP-1 (1/10 y 1/40) presentan una correlación positiva con un rho de 0.81 en ambas diluciones ($p < 0.05$).

V. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo principal comparar los niveles de MMPs, MDPs, TIMPs y HO-1 en BALF en pacientes con TB con hiperglicemia y pacientes con TB sin hiperglicemia. Asimismo, tuvo como objetivo secundario evaluar la asociación entre hiperglicemia y estrés oxidativo con los otros biomarcadores inflamatorios en pacientes con TB. Si bien los resultados iniciales no fueron estadísticamente significativos, esto podría explicarse por el número muestral (baja potencia estadística). A pesar de ello, nuestro estudio logró responder a ambos objetivos. Es importante mencionar que nuestros resultados pertenecen a un estudio exploratorio y se encuentran acorde a la literatura científica actual (11,16,17). Este es el primer estudio que relaciona la actividad de diferentes biomarcadores inflamatorios en BALF, los cuales intervienen en la fisiopatología de TB. Y que, a su vez, busca entender como el perfil de expresión de dichos marcadores pueden verse asociados a la hiperglicemia y al estrés oxidativo.

Los niveles de MMP-1 y MMP-3 se encuentran elevados en BALF en ambos grupos con TB, lo cual es consistente con los estudios realizados por *Elkington et al.* donde los pacientes con TB presentan una elevación de 15.6 y 3.6 veces más de MMP-1 y MMP-3 respectivamente, al compararlos con pacientes controles en muestras de BALF y esputo inducido(11). Cabe resaltar que el grupo TB-hiperglicemia presenta correlación positiva entre la MMP-3 y el nivel de HbA1c, además de una correlación entre MMP-1 y PIIINP. Esto sugeriría que la hiperglicemia, podría estar asociada a un incremento en la actividad de las metaloproteinasas como la MMP3, la cual tiene como acción fisiológica activar a la MMP-1(6), y que, a su vez al degradar mayor cantidad del tejido pulmonar,

incrementaría los niveles de PIIIN(17). Por otra parte, en un intento de frenar la acción de las MMPs, la expresión de TIMPs podría aumentar, pero no ser suficiente para evitar una destrucción del tejido(16), lo que explicaría la correlación positiva entre la TIMP-1 y las MMPs en el grupo descrito. Este mecanismo podría explicar por qué los pacientes con TB que presentan hiperglicemia transitoria o DM, tienen un mayor riesgo de falla en el tratamiento(18) y una presentación clínica más severa(19). En contraste, *Death et al* evaluó el rol de la hiperglicemia en la expresión de MMPs *in vitro*, y encontró que, al estimular macrófagos y fibroblastos con una concentración alta de glucosa, estos incrementaban la expresión de MMP-1,2 y 9, mientras que disminuía la expresión de MMP-3(24).

Lo mencionado anteriormente, podría ser una de las razones de por qué el grupo TB-Hiperglicemia presento niveles de MMP-3 que, si bien fueron elevados, eran menores que el grupo TB-Normoglicemia. En conjunto, nuestro estudio sugiere que la hiperglicemia potenciaría el grado de remodelación tisular existente en los pacientes con TB, lo cual fue evidenciado al comparar el número de cavernas pulmonares entre los grupos de TB-Hiperglicemia y TB-Normoglicemia. Se requieren más estudios que permitan ampliar nuestro conocimiento sobre el rol de la hiperglicemia en la fisiopatología de TB y el mecanismo por el cual interviene en la expresión de MMPs y los otros biomarcadores inflamatorios estudiados.

Respecto a la expresión de MMP-8 y MMP-9 estas se encuentran incrementadas en el grupo de No TB – Normoglicemia. En un estudio, la expresión de MMP-8 y MMP-9 no presentó alteraciones en los niveles de expresión al comparar el grupo TB con el grupo control (pacientes sintomáticos respiratorios) en muestras de BALF(11). Por otro lado, Singh et al demostró que al analizar la

expresión de MMPs en BALF de 17 pacientes con TB, las MMP-1,3,7,8,9 se encontraban elevadas en comparación de pacientes control (sintomáticos respiratorios)(25). Por lo tanto, es posible que la expresión de estas enzimas pueda estar relacionada a una variabilidad biológica como se ha demostrado en otro tipo de muestras (16,26).

Es conveniente mencionar que uno de los principales reguladores de la actividad de las MMPs son los TIMPs(8,27). En nuestro estudio, los niveles de TIMP-1 alcanzaron un mayor nivel en el grupo No TB- Normoglicemia comparado al resto de grupos. Este resultado, es compatible con el estudio de *Elkington et al* donde encontró que en muestras de BALF existe 4.7 veces menos expresión de dicho inhibidor en Pacientes con TB al compararlos con pacientes controles(11). En contraste con un estudio previo, la expresión de TIMP-1 en muestras de esputo inducido de pacientes con TB, se encontraron 9.5 veces más elevadas que en los controles sanos. Además, dichas concentraciones se elevaron durante las primeras semanas del tratamiento anti-TB y fueron disminuyendo al finalizar del tratamiento, pero no en su totalidad(16). Por consiguiente, ambos hallazgos sugieren que la degradación y remodelación del tejido pulmonar durante la infección por TB, depende del equilibrio fluctuante entre la acción de las MMPs y TIMPs(6,7,16). A su vez, nuestro resultado indica que la hiperglicemia podría cumplir un rol negativo, ya que al disminuir la concentración de TIMP-1, existiría una mayor actividad y expresión de MMPs en pacientes con TB-Hiperglicemia que, en pacientes con solo TB, lo que finalmente conllevaría a una mayor degradación tisular, que se vería reflejado en un incremento de los productos de la degradación de la matriz (MDPs).

Uno de los MDPs del tejido pulmonar más importantes e involucrado en la fisiopatología de TB, es el PIIINP(17). Dicho marcador presenta concentraciones 3.8 y 2.4 veces más altas en muestras de esputo inducido y plasma respectivamente, en pacientes con TB y se encontró correlacionado a la actividad de MMP-1(17). Lo mencionado anteriormente, es replicado en nuestro estudio. Cabe resaltar que los grupos con Hiperglicemia, presentaron concentraciones más altas, lo cual también podría ser atribuido al mecanismo comentado anteriormente.

Otra manera en que la hiperglicemia podría intervenir en la acción de las MMPs es mediante el incremento del estrés oxidativo, el cual aumentará los niveles de la HO-1 de forma indirecta(28). Durante los últimos años, múltiples estudios han relacionado a la HO-1 como un posible biomarcador para diferenciar TB pulmonar de TB latente en muestras obtenidas de plasma(22,29,30). *Andrade et al* demostró que existe 5 veces mayor expresión de HO-1 en los pacientes con TB pulmonar en comparación a los pacientes con TB latente y TB extrapulmonar. Además, en su cohorte en 3 diferentes países, la mayoría de pacientes con TB presentaban dos tipos de perfiles de expresión (HO-1 alto / MMP-1 bajo o viceversa), demostrando correlación inversa entre ambas variables(22). Dicho resultado es consistente con nuestro estudio, en el que ambos grupos con TB presentaron el perfil de menor expresión de HO-1 enzima y un mayor nivel de MMP-1. A pesar de lo mencionado anteriormente, cabe resaltar que el análisis con este biomarcador cuenta con diferentes limitaciones. En primer lugar, el mecanismo por el que este biomarcador logra acumularse en plasma es incompleto, sobre todo porque la HO-1 se encuentra de forma intracelular. Además, los estudios previos de HO-1 en pacientes con TB, han sido realizados en muestras plasma(22,29,31), lo cual no necesariamente

replica la expresión en muestras de BALF o tejido pulmonar, las cuales se acercan más al sitio primario de infección. Por este motivo, se necesitan más estudios que puedan evaluar la expresión de HO-1 en muestras de plasma, BALF y tejido pulmonar de pacientes con TB y que estas puedan ser comparadas entre ellas, como se ha hecho con otras enfermedades(32,33).

El mapa de calor y el análisis de clúster jerárquico se han utilizado de forma conjunta en diferentes estudios de TB(22,34). El primero, permite mostrar de manera visual el grado de expresión de distintos biomarcadores, mientras que el segundo, permite poder agrupar en clúster a los pacientes según el patrón de expresión de dichos biomarcadores.

Nuestros resultados demuestran que, al comparar los grupos TB-hiperglicemia y TB-Normoglicemia, estos logran agruparse ya que comparten un perfil de expresión idéntico. Sin embargo, al analizarlos junto a los otros grupos, resalta el grupo TB-Hiperglicemia, ya que presenta una tendencia a formar un perfil de expresión similar en casi todos sus pacientes. Esto implica la relevancia de la hiperglicemia en potenciar la expresión de los biomarcadores inflamatorios. Sin embargo, es importante mencionar que en este análisis no se pudo realizar con la totalidad de los pacientes debido a que en caso de las MMP-8 y MMP-9, la expresión de estas enzimas fue por debajo del rango de detección y no se tomaron en cuenta para este análisis. Es por ello que amerita explorarse en futuras investigaciones el grado de dilución que debe tener las muestras de BALF para poder cuantificar todos los metabolitos y ser analizados en su totalidad.

Finalmente, se evaluó el grado de correlación de los distintos biomarcadores en cada grupo de estudio. Utilizando este enfoque, encontramos que el grupo de

TB-Hiperglicemia muestra el mayor número de correlaciones positivas entre las variables MMP1, MMP3, HbA1c, PIIIN y TIMP-1. Oliveira-de Souza et al utilizó este mismo análisis para comparar el grado de perturbación inflamatoria en muestras de plasma de pacientes con TB y TB-extrapulmonar en adultos y niños. En este estudio, demuestra que los pacientes adultos con TB presentan el mayor número de correlaciones entre sus biomarcadores inflamatorios comparadas a los otros grupos (34). Si bien, este estudio no tuvo en cuenta el valor de glicemia en los pacientes, es interesante que nuestros resultados en BALF, repliquen de manera similar el comportamiento de los biomarcadores mencionados y que logren formar un perfil de expresión más uniforme cuando interviene la hiperglicemia.

Las limitaciones de nuestro estudio radican principalmente en el número de pacientes enrolados, ya que el reclutamiento de participantes se vio afectado debido a la pandemia COVID-19. Sin embargo, se tiene planeado volver a reiniciar el enrolamiento de pacientes. Además, este estudio cuenta con las muestras de plasma y BALF, las cuales podrán ser analizadas y permitirá comparar los valores de los biomarcadores estudiados en el futuro como se sugirió anteriormente. A su vez, la extracción de BALF mediante broncoscopia no es un procedimiento rutinario en pacientes sanos, por lo que nuestros pacientes control fueron aquellos cuyo diagnóstico fue compatible con otra enfermedad que no fuera TB. Por dicho motivo, el perfil de expresión de los biomarcadores estudiados puede haber sido alterado por alguna otra patología.

A pesar de dichas limitaciones, este es el primer estudio piloto descriptivo en el que demostramos la presencia de diferentes perfiles de expresión de biomarcadores inflamatorios en muestra de BALF en los cuatro grupos de estudio. Además, que

estas variables se encuentran asociadas entre sí y que la hiperglicemia y el estrés oxidativo pueden cumplir un rol importante en la expresión de los biomarcadores estudiados. Se espera poder realizar más estudios tomando en cuenta las limitaciones del presente manuscrito.

VI. CONCLUSIONES

Existe una elevación en la expresión de biomarcadores inflamatorios tales como MMPs, MDPs, TIMP y HO-1 en muestras de BALF, y que dicha expresión se asocia a su estatus diagnóstico de TB y su estatus glicémico.

Este estudio piloto sienta las bases para futuras investigaciones, y que estas exploren las variables en detalle.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Geneva: World Health Organization. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2021. 2021.
2. Sotgiu G, Dara M, Centis R, Matteelli A, Solovic I, Gratziau C, et al. Breaking the barriers: Migrants and tuberculosis. *La Presse Médicale*. 2017
3. Sia JK, Rengarajan J. Immunology of Mycobacterium tuberculosis Infections . *Microbiology Spectrum*. 2019 Jul 19;7(4).
4. Chai Q, Wang L, Liu CH, Ge B. New insights into the evasion of host innate immunity by Mycobacterium tuberculosis. Vol. 17, *Cellular and Molecular Immunology*. Springer Nature; 2020. p. 901–13.
5. Sterling TR, Moro RN, Borisov AS, Phillips E. The extracellular matrix regulates necrosis in tuberculosis. 2015;1–28.
6. Ramos-Martínez AG, Enciso-Moreno JA, Espinosa-Ayala I, Mata-Espinoza D, Rivas-Santiago B, Trujillo-Paez V, et al. Expression kinetics of metalloproteinases and their tissue inhibitors in experimental murine pulmonary tuberculosis. *Experimental Lung Research*. 2015;41(1):1–11.
7. Kübler A, Luna B, Larsson C, Ammerman NC, Andrade BB, Orandle M, et al. Mycobacterium tuberculosis dysregulates MMP/TIMP balance to drive rapid cavitation and unrestrained bacterial proliferation. *Journal of Pathology*. 2015;235(3):431–44.

8. Elkington PT, Ugarte-Gil CA, Friedland JS. Series “matrix metalloproteinases in lung health and disease”: Matrix metalloproteinases in tuberculosis. *European Respiratory Journal*. 2011;38(2):456–64.
9. Ong CWM, Elkington PT, Brilha S, Ugarte-Gil C, Tome-Esteban MT, Tezera LB, et al. Neutrophil-Derived MMP-8 Drives AMPK-Dependent Matrix Destruction in Human Pulmonary Tuberculosis. *PLoS Pathogens*. 2015;11(5):1–22.
10. Sathyamoorthy T, Tezera LB, Walker NF, Brilha S, Saraiva L, Mauri FA, et al. Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase Regulates Monocyte Migration and Collagen Destruction in Tuberculosis. *J Immunol*. 2015;195(3):882–91.
11. Elkington P, Shiomi T, Breen R, Nuttall RK, Ugarte-gil CA, Walker NF, et al. MMP-1 drives immunonopathology in human tuberculosis and transgenic mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(5):1827–33.
12. Sheen P, O’Kane CM, Chaudhary K, Tovar M, Santillan C, Sosa J, et al. High MMP-9 activity characterises pleural tuberculosis correlating with granuloma formation. *European Respiratory Journal*. 2009;33(1):134–41.
13. McMahan RS, Birkland TP, Smigiel KS, Vandivort TC, Rohani MG, Manicone AM, et al. Stromelysin-2 (MMP10) Moderates Inflammation by Controlling Macrophage Activation. *J Immunol*. 2016;197(3):899–909.
14. O’Kane CM, Elkington PT, Friedland JS. Monocyte-dependent oncostatin M and TNF- α synergize to stimulate unopposed matrix metalloproteinase-

- 1/3 secretion from human lung fibroblasts in tuberculosis. *European Journal of Immunology*. 2008;38(5):1321–30.
15. Brilha S, Sathyamoorthy T, Stuttaford LH, Walker NF, Wilkinson RJ, Singh S, et al. Title: ESAT-6 drives MMP-10 gene expression and secretion in tuberculosis Authors: Sara Brilha. 2016;1–37.
 16. Ugarte-Gil CA, Elkington P, Gilman RH, Coronel J, Tezera LB, Bernabe-Ortiz A, et al. Induced Sputum MMP-1, -3 & -8 Concentrations during Treatment of Tuberculosis. *PLoS ONE*. 2013;8(4):2–9.
 17. Seddon J, Kasprowicz V, Walker NF, Yuen HM, Sunpath H, Tezera L, et al. Procollagen iii n-terminal propeptide and desmosine are released by matrix destruction in pulmonary tuberculosis. *Journal of Infectious Diseases*. 2013;208(10):1571–8.
 18. Boillat-Blanco N, Ramaiya KL, Mganga M, Minja LT, Bovet P, Schindler C, et al. Transient hyperglycemia in patients with tuberculosis in Tanzania: Implications for diabetes screening algorithms. *Journal of Infectious Diseases*. 2016;213(7):1163–72.
 19. Riza AL, Pearson F, Ugarte-Gil C, Alisjahbana B, van de Vijver S, Panduru NM, et al. Clinical management of concurrent diabetes and tuberculosis and the implications for patient services. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 2014;2(9):740–53.
 20. Lachmandas E, Vrieling F, Wilson LG, Joosten SA, Netea MG, Ottenhoff TH, et al. The effect of hyperglycaemia on in vitro cytokine production and

- macrophage infection with mycobacterium tuberculosis. PLoS ONE. 2015;10(2):1–13.
21. Van Heijst JWJ, Pamer EG. Radical host-specific therapies for TB. Cell. 2013;153(3):507–8.
 22. Andrade BB, Pavan Kumar N, Amaral EP, Riteau N, Mayer-Barber KD, Tosh KW, et al. Heme Oxygenase-1 Regulation of Matrix Metalloproteinase-1 Expression Underlies Distinct Disease Profiles in Tuberculosis. The Journal of Immunology. 2015;195(6):2763–73.
 23. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021. Diabetes Care. 2021 Jan 1;44:S15–33.
 24. Death AK, Fisher EJ, McGrath KCY, Yue DK. High glucose alters matrix metalloproteinase expression in two key vascular cells: Potential impact on atherosclerosis in diabetes. Atherosclerosis. 2003 Jun 1;168(2):263–9.
 25. Singh S, Kubler A, Singh UK, Singh A, Gardiner H, Prasad R, et al. Antimycobacterial drugs modulate immunopathogenic matrix metalloproteinases in a cellular model of pulmonary tuberculosis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2014;58(8):4657–65.
 26. Sathyamoorthy T, Sandhu G, Tezera LB, Thomas R, Singhania A, Woelk CH, et al. Gender-dependent differences in plasma matrix metalloproteinase-8 elevated in pulmonary tuberculosis. PLoS ONE. 2015 Jan 30;10(1).

27. Kumar NP, Moideen K, Nancy A, Viswanathan V, Thiruvengadam K, Sivakumar S, et al. Association of Plasma Matrix Metalloproteinase and Tissue Inhibitors of Matrix Metalloproteinase Levels With Adverse Treatment Outcomes Among Patients With Pulmonary Tuberculosis. *JAMA Netw Open*. 2020 Dec 1;3(12):e2027754.
28. Amaral EP, Vinhaes CL, Oliveira-De-Souza D, Nogueira B, Akrami KM, Andrade BB. The Interplay between Systemic Inflammation, Oxidative Stress, and Tissue Remodeling in Tuberculosis. Vol. 34, *Antioxidants and Redox Signaling*. Mary Ann Liebert Inc.; 2021. p. 471–85.
29. Andrade BB, Pavan Kumar N, Mayer-Barber KD, Barber DL, Sridhar R, Rekha VVB, et al. Plasma Heme Oxygenase-1 Levels Distinguish Latent or Successfully Treated Human Tuberculosis from Active Disease. *PLoS ONE*. 2013 May 6;8(5).
30. Rockwood N, Costa DL, Amaral EP, du Bruyn E, Kubler A, Gil-Santana L, et al. *Mycobacterium tuberculosis* induction of heme oxygenase-1 expression is dependent on oxidative stress and reflects treatment outcomes. *Frontiers in Immunology*. 2017 May 12;8(MAY).
31. Kubler A, Flynn JL, Jackson SH, Wilkinson RJ. *Mycobacterium tuberculosis* Induction of Heme Oxygenase-1 Expression Is Dependent on Oxidative Stress and ... induction of heme Oxygenase-1 expression is Dependent on Oxidative stress and reflects Treatment Outcomes. 2017;(May).

32. Mumby S, Upton RL, Chen Y, Stanford SJ, Quinlan GJ, Nicholson AG, et al. Lung heme oxygenase-1 is elevated in acute respiratory distress syndrome. *Critical Care Medicine*. 2004 May;32(5):1130–5.
33. Zhenxiang gg Z, Yongjian X, Weining X, Xiansheng I, G-uohua tl Z. Expression of Heme Oxygenase-1 in the Peripheral Blood Mononuclear Cells from Asthmatic Patients. 2005.
34. Oliveira-de-Souza D, Vinhaes CL, Arriaga MB, Kumar NP, Queiroz ATL, Fukutani KF, et al. Aging increases the systemic molecular degree of inflammatory perturbation in patients with tuberculosis. *Scientific Reports*. 2020 Dec 1;10(1).

VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Características	TB- Hiperglicemia N=6	TB- normoglicemia N=6	No TB – Hiperglicemia N=12	No TB – normoglicemia N=6
Sexo-n (%) femenino	3 (50)	2 (33)	6 (50)	4 (67)
Edad -mediana (IIC)	43 (32-63)	28 (26-46)	59 (53-67)	59 (30-64)
Diabetes Mellitus tipo 2 -n (%)	1 (17)	0 (0)	3 (25)	1 (17)
Compromiso pulmonar -n (%)				
Ausente	0 (0)	0 (0)	1 (8)	0 (0)
Unilateral	3 (50)	6 (100)	4 (33)	5 (83)
Bilateral	3 (50)	0 (0)	7 (58)	1 (17)
Número de cavernas -n (%)				
Ninguna	2(33)	4 (66)	10 (83)	5 (83)
Una	3 (50)	1 (17)	2 (17)	1 (17)
Dos	1(17)	1 (17)	0 (0)	0 (0)
Baciloscopia -n (%)				
Negativo	1 (17)	2 (33)	12 (100)	6 (100)
+	2 (33)	4 (67)	0 (0)	0 (0)
++	1 (17)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
+++	2 (33)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Indeterminado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cultivo de Mtb -n (%)				
Positivo	6 (100)	6 (100)	0 (0)	0 (0)
Negativo	0 (0)	0 (0)	12 (100)	6 (100)
Indeterminado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Tabla 1. Características Demográficas.

IIQ: Intervalo intercuartil

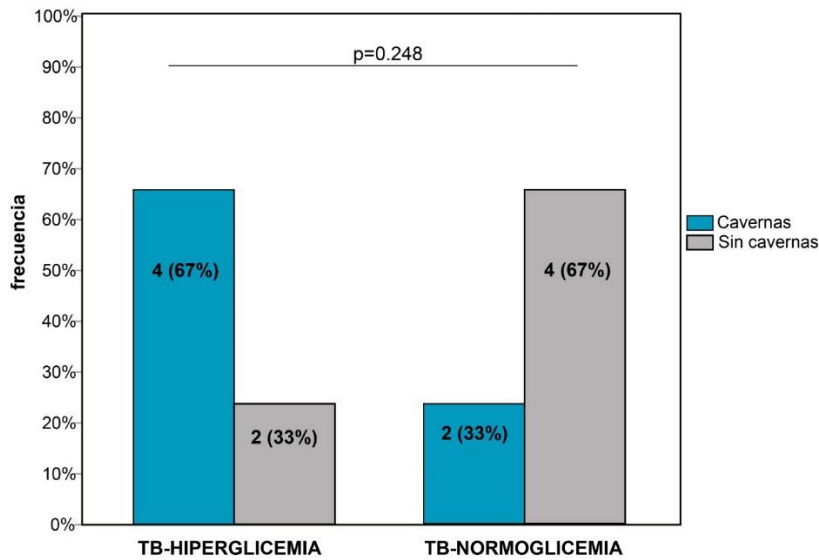


Figura 1. Comparación de la presencia de cavernas.

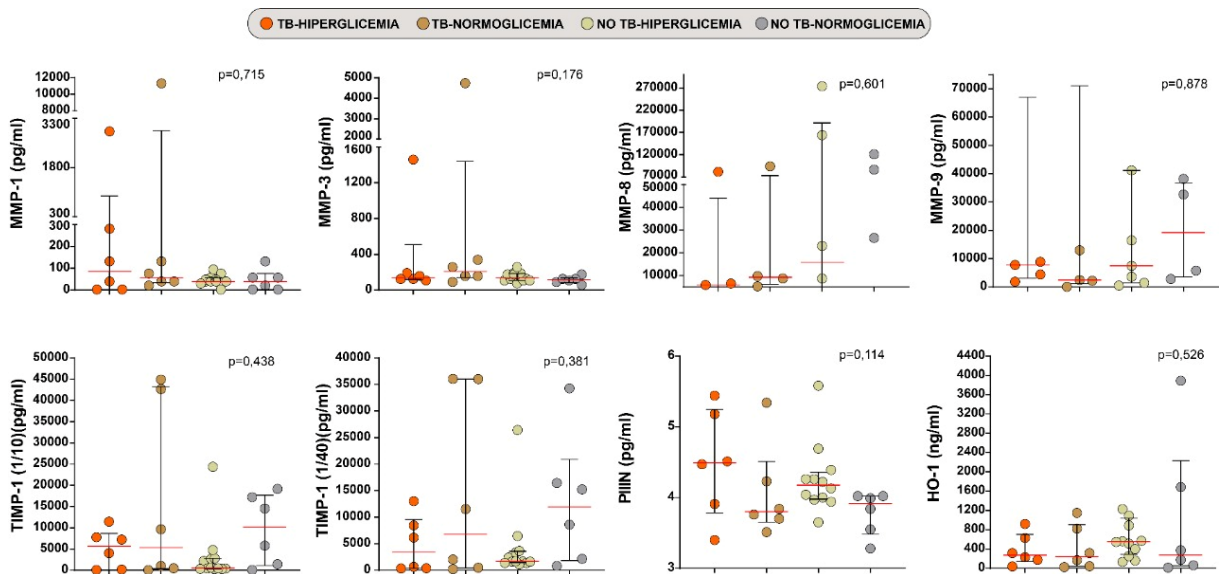


Figura 2. Distribución de biomarcadores en los diferentes grupos del estudio.

Se utilizó el test Kruskal – Wallis para evaluar la distribución de cada biomarcador en los distintos grupos de estudio. Las líneas horizontales representan la mediana en cada gráfico. MMP: Metaloproteinasa de la matriz extracelular TIMP-1: Inhibidor tisular de metaloproteinasa tipo 1 PIIN: Procolágeno IIIN – terminal HO1: Heme oxigenasa tipo 1

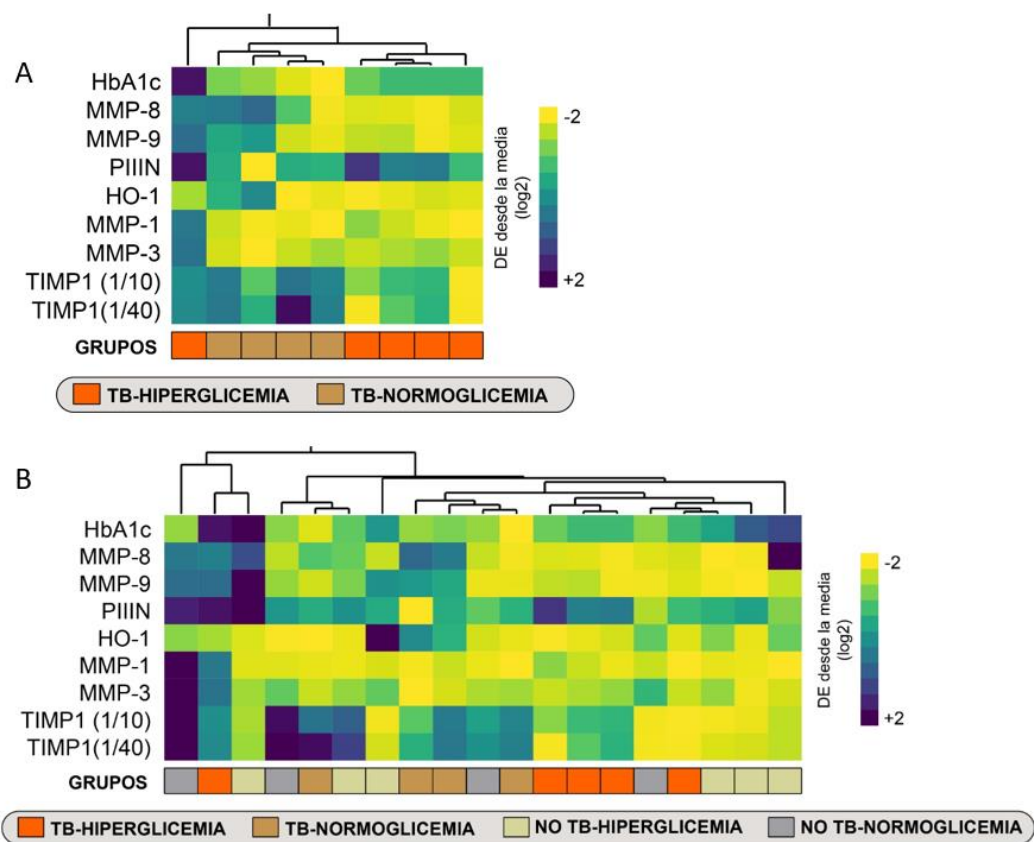


Figura 3. Análisis de clúster jerárquico (Método de Ward). Se utilizó para identificar los perfiles de expresión de los distintos biomarcadores dentro de los sujetos de estudio. **Mapa de calor.** Muestra la expresión de los diferentes biomarcadores convertidos a log2 en cada paciente de forma individual y a su vez, al grupo de estudio al cual pertenece. Cada cuadrado representa valores por encima o debajo de la media(log2) de cada biomarcador en cada paciente. HbA1c: Hemoglobina glicosilada MMP: Metaloproteinasa de la matriz extracelular TIMP-1: Inhibidor tisular de metaloproteinasa tipo 1 PIIIN: Procolágeno IIIN – terminal HO1: Heme oxigenasa tipo 1

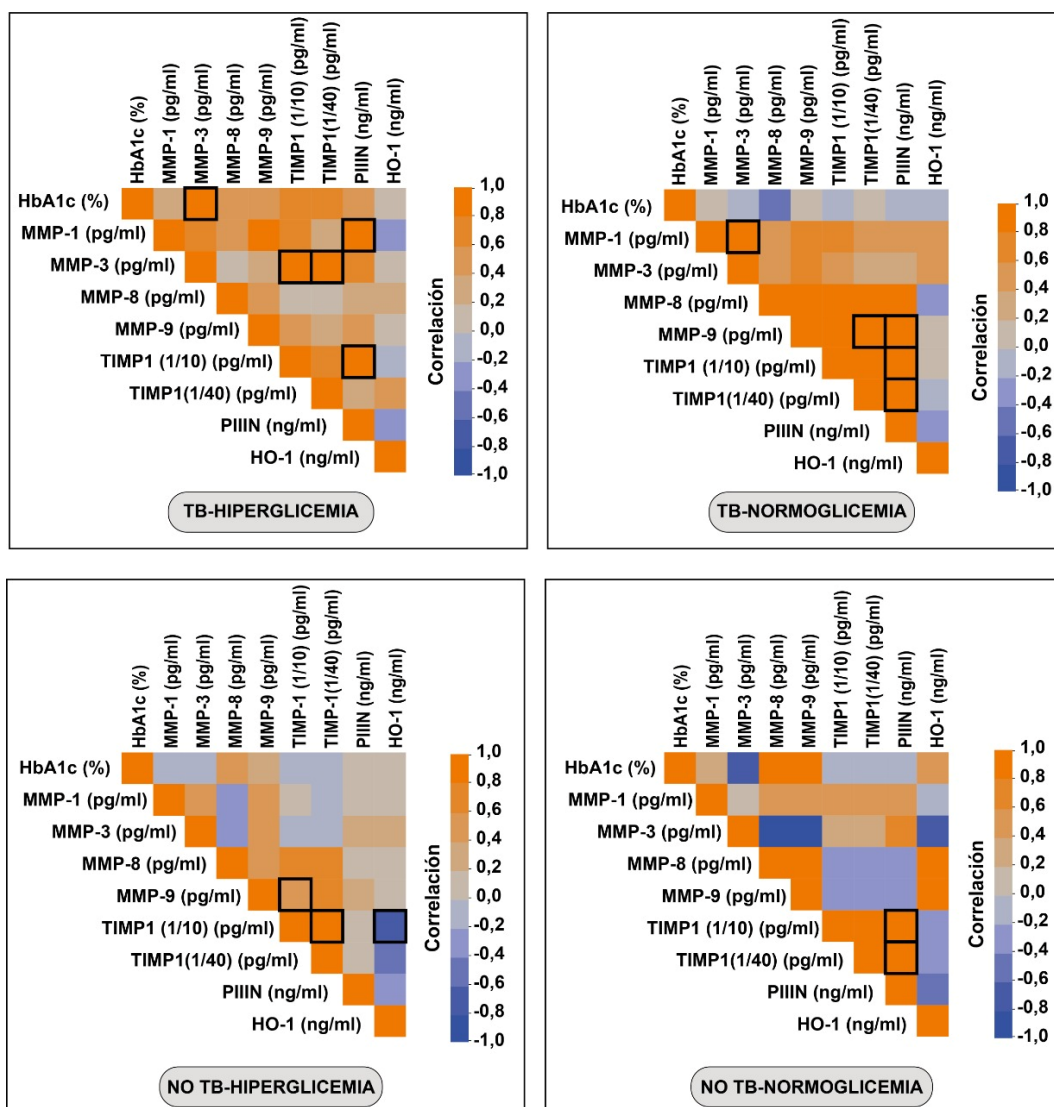


Figura 4. Matriz de correlación de los biomarcadores en los diferentes grupos de estudio. Cada cuadrado muestra el nivel de correlación que existe entre 2 biomarcadores, aquellos que presentan contorno negro representa correlaciones con un nivel de significancia estadística ($p < 0.05$). Para evaluar las correlaciones, se utilizó el test de Spearman debido a la distribución no normal de las variables cuantitativas.

ANEXOS

Anexo 1. Cuadro de operacionalización de variable

<u>Variable</u>	<u>Definición Operacional</u>	<u>Tipo de Variable</u>	<u>Escala de medición</u>
Expresión de MMPs	Cantidad de MMPs en BALF (pg/ml)	Cuantitativa	Continua
Expresión de MDPs	Cantidad de MDPs en BALF (pg/ml)	Cuantitativa	Continua
Expresión de TIMPs	Cantidad de TIMPs en BALF (pg/ml)	Cuantitativa	Continua
Glicemia	Porcentaje de Hemoglobina Glicosilada (Hb1Ac)	Cuantitativa	Continua
Perfil oxidativo	Cantidad de Heme oxigenasa (HO-1) en BALF (ng/ml)	Cuantitativa	Continua
Daño tisular	Para el estudio lo definimos como número de cavitaciones	0 1 caverna 2 cavernas 3 cavernas 4+ cavernas	Ordinal
Compromiso pulmonar	Numero de campos pulmonares afectados en la radiografía y/o tomografía	0 Ninguno 1 Unilateral 2 Bilateral	Ordinal
VIH	Diagnóstico de positivo de ELISA para VIH	0 No 1 Si	Nominal

Diabetes	Hemoglobina Glicosilada mayor de 6.5%	0 No 1 Si	Nominal
Índice de Masa Corporal(IMC)	Masa(kg)/ Estatura(m ²)	0 Bajo peso (<18.50) 1 Normal (18,5-24,99) 2 Sobrepeso (≥25) 3 Obesidad (≥30)	Ordinal
Numero de episodios con TB	Antecedentes de TB	0 ninguno 1 Un episodio 2 Dos episodios 3 Tres episodios 4 Cuatro episodios o más	Ordinal
Patrón de resistencia de la cepa Mtb	Susceptibilidad a Isoniazida, Rifampicina u otro fármaco	0 Susceptible 1 Resistente a Isoniazida 2 Resistencia a Rifampicina 3 TB-MDR 4 Otro patrón de resistencia	Nominal
Otras enfermedades	Ocurrencia de comorbilidades según historia clínica	0 Ninguna 1 Sarcoidiosis 2 Aspergiloma 3 Cáncer 4 EPOC 5 Otra	Nominal
Edad	Años de vida del paciente	Cuantitativa	Continua
Sexo	Género al que pertenece el paciente	0 Masculino 1 Femenino	Nominal
Tabaquismo	Consumo de tabaco	0 Nunca 1 En el pasado 2 actualmente	Ordinal
Presión arterial	Presión arterial medida en mmHg	0 No 1 Si	Continuo

Anexo 2. Ficha de recolección de datos

Ficha de Participante

Pacientes con Tuberculosis	Pacientes Control
- Pacientes que tengan un diagnostico confirmatorio (cultivo y/o biopsia) compatible con Tuberculosis	- Pacientes que el cultivo y la biopsia no son compatibles con Tuberculosis.

FECHA DE ENROLAMIENTO	___ / ___ ___ / ___ ___ ___ ___ día mes año
FECHA DE INGRESO PCT	___ / ___ ___ / ___ ___ ___ ___ día mes año
TIPO DE PACIENTE	0 = Control 1= Paciente TB
CODIGO TB-BALF	TB - BALF - ____

TB-BALF - ____

Iniciales ____

Fecha: ____/____/____ - 1 -

1. DATOS DE FILACION

F1	SEXO	0 = Femenino 1 = Masculino
F2	FECHA DE NACIMIENTO	___/___/___ día mes año
F3	EDAD	___

2. CUESTIONARIO MEDICO - ENROLAMIENTO

M1	¿Padece usted alguna enfermedad? ¿Le han diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades?		0) No	1) SI
	Diabetes Mellitus		0) No	1) SI
	Asma		0) No	1) SI
	Cancer		0) No	1) SI
	EPOC		0) No	1) SI
	Hipertensión Arterial		0) No	1) SI
	Insuficiencia Cardíaca		0) No	1) SI
	Sarcoidosis		0) No	1) SI
	Aspergiloma		0) No	1) SI
	Otras		_____	
M2	Radiografía de Torax			
M2a	Presencia de cavernas	0) No	1) 1 Caverna 2) 2 Cavernas 3) 3 cavernas 4) 4+ Cavernas	
M2b	COMPROMISO PULMONAR	0) No	1) Unilateral 2) Bilateral	
M3	TABAQUISMO	0) No	1) En el pasado 2) Actualmente	

M4	Historia de Inhouse smoking	0) No 1)Si
M5	Actividad laboral	

M7	Peso	_____ Kg
M8	Altura	_____ m
M9	Presión Arterial	PS= PD=

3. RESULTADOS

M10	Tuberculosis	0)No 1)Si
M11	Otro diagnóstico	0)Cancer 1)Sarcoidosis 2)Aspergillosis 3)Otros_____

4. LABORATORIO

	BK	0) Negativo 1) + 2) ++ 3) +++ 4) Indeterminado
	Cultivo	1) Positivo 2) Negativo 3) Indeterminado
	Sensibilidad	INH 0) Sensible 1) Resistente RIF 0) Sensible 1) Resistente
	Tipo de tratamiento	0 = Esquema 1 1 = Individualizado
	VIH	0) Negativo 1) Positivo 2) No se tomo
	Hemoglobina Glicosilada (HbA1c)	0) No se tomó 1) Si se tomo Resultado: _____
	Resultados de Patología	_____

Anexo 3. Consentimiento Informado

SIDISI: 100960



Anexo 1: Consentimiento Informado

Consentimiento para participar en un estudio de investigación

Instituciones : Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt & Facultad de Medicina Alberto Hurtado (Universidad Peruana Cayetano Heredia) y Hospital Nacional Cayetano Heredia

Investigadores : Ronald Cadillo, Martín Montes, Oscar Gayoso, César Ugarte.

Título : Los niveles de expresión de metaloproteinasas de la matriz (MMPs) y sus productos de degradación (MDPs) están asociados a niveles de glicemia en pacientes con Tuberculosis activa.

Propósito del Estudio:

La Tuberculosis (TB) es una infección bacteriana que principalmente compromete a los pulmones, pero también puede infectar a otros órganos. Esta infección es una de las principales causas de muerte en el mundo, por lo que se necesitan estudios que permitan mejorar las técnicas de diagnóstico y tratamiento, y para ello se necesita entender mejor como es la relación de la TB con el cuerpo humano.

Usted está invitado a participar en un estudio sobre la asociación entre los niveles de expresión de Metaloproteinasas (MMPs) y sus productos (MDPs) causada por la TB y los niveles de glicemia. Este estudio es realizado por el Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt & la Facultad de Medicina Alberto Hurtado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y el Hospital Nacional Cayetano Heredia. Sabemos que la TB afecta el tejido pulmonar, llegando a destruir el tejido, encontrándose asociación entre niveles de MMPs y MDPs y destrucción de tejido. Asimismo, se sabe que la hiperglicemia (como se llama a la glucosa alta) lleva a un mayor riesgo de TB y de una consecuente destrucción de tejido, por lo que queremos evaluar el rol de los MMPs y MDPs con los niveles de glucosa en pacientes con TB, así como compararlo con pacientes que no tienen TB.

Su médico tratante ha evaluado su caso, y le ha confirmado la indicación del procedimiento mediante el cual se le tomará una muestra de lavado bronco alveolar (llamado BALF). Después de realizar los exámenes por el médico tratante, el BALF será descartado, por lo que solicitamos dicha muestra que se va a descartar para que pueda ser utilizada en este estudio. Además, requerimos una muestra de sangre para evaluar la glicemia y para evaluar los niveles de MMPs y MDPs. El resultado de glicemia se tomará por medio de la prueba de Hemoglobina Glicosilada (Hb1Ac).

La Universidad Peruana Cayetano Heredia, está en la búsqueda de entender cuál es la fisiopatología de la TB, por lo cual es necesario contar con muestras de pacientes voluntarios, que, como Usted, deseen colaborar con el desarrollo de mejores métodos de evaluación del tratamiento contra esta enfermedad.

Código de participante: _____



SIDISI: 100960



Procedimiento:

Si usted acepta participar en este estudio:

1. Se le tomará una muestra de 20 ml de sangre del antebrazo (aproximadamente una cucharada de sopa)
2. Da su consentimiento para el uso del lavado bronco alveolar (aproximadamente un frasco pequeño) que se requiere para este estudio.
3. Da su consentimiento para registrar datos de su historia clínica, así como guardar imágenes de su tomografía, resonancia y/o radiografía de Tórax para evaluar compromiso pulmonar.

Riesgos:

La toma de muestra de sangre es ligeramente dolorosa y existe un riesgo muy pequeño de que se pueda infectar si no se mantiene la higiene adecuada, además la toma de muestra del antebrazo le puede ocasionar un pequeño hematoma (moretón) el cual desaparecerá en un tiempo aproximado de cinco días.

La toma de lavado bronco alveolar no debería producir dolor, ya que usted se encontrará anestesiado, sin embargo, existe un riesgo de ahogamiento si se ingieren alimentos o líquidos, por lo que no se le permitirá comer o beber durante un periodo de dos horas.

Beneficios:

Usted se beneficiará de una evaluación clínica y tendrá el resultado de su glicemia. Se le informará de manera personal y confidencial los resultados que se obtengan de los exámenes realizados. El costo del examen de glucosa será cubierto por el estudio y no le ocasionarán gasto alguno.

Costos e incentivos

Usted no deberá pagar nada por participar en el estudio. Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole, únicamente la satisfacción de colaborar a un mejor entendimiento de la fisiopatología de la TB.

Confidencialidad:

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participan en este estudio. Sus archivos no serán mostrados a ninguna persona ajena al estudio sin su consentimiento.

Derechos del paciente:

Si usted decide participar en el estudio, puede retirarse de éste en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno. Si tiene alguna duda adicional, por favor comunicarse con Ronald Cadillo Hernández al teléfono [REDACTED] o al Dr. César Ugarte Gil al teléfono [REDACTED].

Código de participante: _____



SIDISI: 100960

Si usted tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar a la presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Dra. Frine Samalvides al teléfono 01- 319000 anexo 2271, y al presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación del Hospital Nacional Cayetano Heredia, Dr. Jorge Luis Hung-Yep al teléfono 01-4819502.

CONSENTIMIENTO

Acepto voluntariamente participar en este estudio. He comprendido la información contenida en este documento y las preguntas que hice, fueron satisfactoriamente contestadas. También entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Acepto voluntariamente donar 20 ml. de sangre

☐ Sí ☐ No

Acepto voluntariamente donar el lavado bronco alveolar

que está por descartarse

☐ Sí ☐ No

Acepto voluntariamente a que guarden imágenes (tomografía, resonancia y/o radiografía de tórax) para tener una mejor información de mi enfermedad

☐ Sí ☐ No

Autorizo el almacenamiento por 10 años, sin mi nombre o ninguna información que pudiera identificarme; para ser usadas en investigaciones futuras de inmunología y fisiopatología en tuberculosis.

☐ Sí ☐ No



SIDISI: 100960

Hoja de Firmas

Participante

Nombre:

DNI:

Fecha

Testigo

Nombre:

DNI:

Fecha

Investigador

Nombre:

Fecha



Código de participante: _____