



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 1

Neiva, 23 de enero de 2019

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

Los suscritos:

Cristhian Felipe Ramirez Ramos, con C.C. No.1081404270 de La Plata Huila.

Jhon Fredy Salamanca Montilla, con C.C. No.1110507358 de Ibagué, Tolima,

autores del trabajo de grado titulado " NIVELES DE VITAMINA D SERICOS Y EN LAVADO BRONCOALVEOLAR EN PACIENTES CON TUBERCULOSIS PULMONAR" presentado y aprobado en el año 2019 como requisito para optar al título de Especialista en medicina interna,

Autorizamos al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma:

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma:

Vigilada Mineducación

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA					   
	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					
DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA 1 de 4

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Niveles de vitamina D sericos y en lavado broncoalveolar en pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Ramírez Ramos	Cristhian Felipe
Salamanca Montilla	Jhon Fredy

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Pinzón Tovar	Alejandro
Lasta González	Giovani

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Especialista en Medicina Interna

FACULTAD: Salud

PROGRAMA O POSGRADO: Especialización en Medicina Interna

CIUDAD: Neiva

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2019

NÚMERO DE PÁGINAS: 75

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas ___ Fotografías ___ Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general Grabados ___
 Láminas ___ Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin
 ilustraciones ___ Tablas o Cuadros

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento: N/A

MATERIAL ANEXO: N/A

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

Español

Inglés

- | | |
|--------------------------|------------------------|
| 1. Tuberculosis | Tuberculosis |
| 2 Tuberculosis pulmonar | pulmonary Tuberculosis |
| 3. TBC | TBC |
| 4. vitamina D | vitamin D |
| 5. lavado broncoalveolar | washed broncoalveolar |

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

Introducción: La tuberculosis es una enfermedad con una importante carga de morbimortalidad a nivel mundial. Múltiples factores contribuyen a la presentación de esta enfermedad incluyendo el seroestado de vitamina D. Se pretende medir el nivel local (broncoalveolar) y sistémico del compuesto en pacientes con tuberculosis y controles sin la enfermedad.

Metodología: Estudio ambispectivo, con pacientes a los que se les realizó fibrobroncoscopia por cualquier causa. Se midió el nivel de vitamina D en suero y en el lavado broncoalveolar. Se procesaron los datos con el programa SPSS versión 23. Se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar asociación entre variables considerando significativo un valor de $p < 0,05$

Resultados: se incluyeron 52 pacientes: 18 diagnosticados con tuberculosis y 34 como controles tanto infecciosos como no infecciosos. Las características poblacionales fueron homogéneas. Los niveles de vitamina D tanto en suero como en el lavado broncoalveolar de los pacientes con tuberculosis fueron más bajas que en los otros dos grupos, con una media sérica de 22,4 ng/mL frente a 33 ng/mL y 32,6 ng/mL (controles infecciosos y no infecciosos) ($p=0,006$) y una media de 9,7 ng/mL versus los controles con media de 12,2 ng/mL ($p= 0,012$) en lavado broncoalveolar.

Conclusiones Se estudiaron 52 pacientes en 3 grupos. Hubo diferencia significativamente estadística entre los niveles de vitamina D en suero y lavado bronco alveolar de los pacientes con tuberculosis pulmonar, siendo evidente de forma más notoria en los niveles séricos, guardando relación con el

Vigilada mieducación



comportamiento local de la misma. Estos hallazgos sugieren que se debe evaluar el papel de la vitamina D tanto a nivel diagnóstico como también potencialmente terapéutico en pacientes con tuberculosis pulmonar como lo han venido mostrando estudios recientes con suplencia de vitamina D.

Conclusiones: Hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de vitamina D en suero y lavado broncoalveolar de los pacientes con tuberculosis pulmonar, guardando relación con la fisiopatología local de la misma. Se debe evaluar el papel de la vitamina D tanto a nivel diagnóstico como también potencialmente terapéutico en pacientes con tuberculosis pulmonar.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Introduction: Tuberculosis is a disease with a significant burden of morbidity and mortality worldwide. Multiple factors contribute to the presentation of this disease, including serum vitamin D. The aim is to measure the local (bronchoalveolar) and systemic level of the compound in patients with tuberculosis and controls without the disease.

Methods: Ambispective study, with patients who underwent fibrobronchoscopy for any reason. Level of vitamin D in serum and bronchoalveolar lavage was measured. The data were processed with the SPSS program, version 23. The Kruskal-Wallis test was used to evaluate the association between variables, considering a value of $p < 0.05$ as significant.

Results: 52 patients were included: 18 diagnosed with tuberculosis and 34 as both infectious and non-infectious controls. The population characteristics were homogeneous. Vitamin D levels in both serum and bronchoalveolar lavage of patients with tuberculosis were lower than in the other two groups, with a mean serum level of 22.4 ng / mL versus 33 ng / mL and 32.6 ng / mL (infectious and noninfectious controls) ($p = 0.006$), and a mean of 9.7 ng / mL versus controls with mean of 12.2 ng / mL ($p = 0.012$) in bronchoalveolar lavage

Conclusion: There was a statistically significant difference between levels of serum vitamin D and bronchoalveolar lavage in patients with pulmonary tuberculosis, which was related to the local pathophysiology of the disease. Role of vitamin D should be evaluated both at the diagnostic and potentially therapeutic levels in patients with pulmonary tuberculosis.



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	4 de 4
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado:

Luis Felipe Cardenas L.

Firma:

Nombre Jurado:

Giovanni Cavirto Peris

Firma:

Nombre Jurado:

DIEGO F. SALINAS

Giovanni Peris

Firma:

Diego F. Salinas
INSTRUMENTOS - CC-71103

NIVELES DE VITAMINA D SERICOS Y EN LAVADO BRONCOALVEOLAR EN
PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS PULMONAR

CRISTHIAN FELIPE RAMIREZ RAMOS, MD.
JHON FREDY SALAMANCA MONTILLA, MD.

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
ESPECIALIZACION EN MEDICINA INTERNA
NEIVA, HUILA
2019

NIVELES DE VITAMINA D SERICOS Y EN LAVADO BRONCOALVEOLAR EN
PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS PULMONAR

CRISTHIAN FELIPEN RAMIREZ RAMOS, MD.
JHON FREDY SALAMANCA MONTILLA, MD

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Especialista en
Medicina Interna

Asesores:

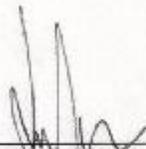
ALEJANDRO PINZON TOVAR, MD.
Médico Internista Endocrinólogo.

GIOVANI LASTA GONZALEZ, MD.
Médico Internista Neumólogo

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
ESPECIALIZACION EN MEDICINA INTERNA
NEIVA, HUILA
2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

Acceptado


Firma presidente del jurado


Firma del jurado

Diego F. Salinas C.
INECIO, OCUA MI INTERNA
R. B. 47703 - CC. 770315


Firma del jurado

Neiva, enero del 2019

DEDICATORIA

*A nuestras familias y en especial nuestras madres, Aleicy y Maria Aracelly:
Su paciencia, cariño, amor incondicional, consejos y apoyo diario nos han
permitido enfrentar cada obstáculo de nuestras vidas de una manera tal
que siempre hemos salido victoriosos. Son el motor que nos ha impulsado a
seguir en este largo camino. Sin ustedes nuestra vida estaría a medias.
Gracias, por tanto.*

CRISTHIAN FELIPE
JHON FREDY

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos

A los pacientes del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, quienes participaron e hicieron posible el desarrollo de la presente investigación.

Al personal del laboratorio clínico del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, en especial a la Doctora Alicia Cortes, por la paciencia y disposición en la realización del trabajo de campo.

Al laboratorio BioMérieux por su disposición y el aporte invaluable a la presente investigación.

A la Dra. María Isabel Cuellar, Médica Interna y al Dr. Juan Diego Rivera Marín médico rural de investigación, quienes nos han acompañado en el desarrollo del presente trabajo; sin su apoyo no hubiera sido posible.

A Yulieth Patricia, auxiliar de enfermería del servicio de neumología, quien participo de manera invaluable en la inclusión de pacientes y recolección de muestras.

Al Dr. Guido Lastra fuente principal e indispensable en el problema de la presente investigación.

Finalmente agradecer a los Doctores Giovani Lastra González y Alejandro Pinzón Tovar, asesores del presente trabajo, su paciencia, apoyo, consejos y aportes nos han guiado en la mejor dirección, lo que permitió culminar el presente trabajo de investigación. ¡Nuestra admiración y respeto!!

A todos, los participantes Mil Gracias...

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	17
1. JUSTIFICACIÓN	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 OBJETIVO GENERAL	20
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	20
4. ANTECEDENTES	21
5. MARCO TEORICO	25
5.1 EPIDEMIOLOGÍA	25
5.2 PATOGÉNESIS	26
5.2.1 Patógeno	26
5.2.2 Transmisión	27
5.2.3 Resultados después de la infección	27
5.2.4 Inmunopatogénesis	28
5.2.5 Respuesta inmune innata	28

	pág.	
5.2.6	Respuesta inmune adaptativa	29
5.3	DIAGNOSTICO	30
5.3.1	Baciloscopia	30
5.3.2	Cultivos	30
5.3.3	Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos	31
5.4	VITAMINA D	31
5.4.1	Metabolismo de la vitamina D	31
5.4.2	Inmunomodulación	32
5.4.3	Vitamina D y tuberculosis	33
5.4.4	Fisiopatología (Estudios in-vitro)	33
5.4.5	Efecto protector (Estudios observacionales)	33
5.4.6	¿Profilaxis con Vitamina D?	35
5.5	EFEECTO TERAPÉUTICO	35
5.5.1	Helioterapia	35
5.5.2	Aceite de hígado de bacalao	35
5.5.3	Ensayos clínicos	36
6.	DISEÑO METODOLOGICO	38
6.1	TIPO DE ESTUDIO	38
6.2	POBLACIÓN	38

		pág.
6.3	PERÍODO DE ESTUDIO	38
6.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	39
6.5	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	39
6.6	MUESTRA	39
6.7	RECOLECCIÓN DE DATOS	39
6.7.1	Seguridad del paciente	40
6.7.2	Recolección de muestras	40
6.7.3	Tabulación de la información	40
6.7.4	Análisis de la información	40
7.	ASPECTOS ETICOS	42
8.	RESULTADOS	44
8.1	PRIMERA ETAPA	44
9.	DISCUSIÓN	56
10.	CONCLUSIONES	60
11.	RECOMENDACIONES	61

	pág.
BIBLIOGRAFIA	62
ANEXOS	70

LISTA DE TABLAS

		pág.
Tabla 1	Variables de caracterización clínicas y demográficas de los pacientes involucrados en el estudio. * <i>promedio</i> , EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, HTA: hipertensión arterial, ERC: enfermedad renal crónica	44
Tabla 2	Clasificación del caso	45
Tabla 3	Características basales de los grupos de pacientes	48
Tabla 4	Niveles de vitamina D en BAL y suero de los distintos grupos de pacientes	51
Tabla 5	Distribución en percentiles de niveles de vitamina D en BAL	52
Tabla 6	Distribución en percentiles de niveles de vitamina D en suero	52
Tabla 7	Perfil antropométrico y de calcio de los grupos de pacientes	55

LISTA DE GRAFICAS

		pág.
Grafica 1	Clasificación del caso	47
Grafica 2	Niveles de vitamina D en suero	53
Grafica 3	Niveles de vitamina D en lavado broncoalveolar	54

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Consentimiento informado	71

RESUMEN

Introducción. La tuberculosis es una enfermedad de alta prevalencia a nivel mundial con una importante carga de morbimortalidad. Múltiples factores contribuyen a la presentación de esta enfermedad incluyendo características nutricionales como el bajo estado de vitamina D. Se ha sugerido un papel importante en la patogénesis pues participa en la actividad antimicrobiana. Se pretende medir el nivel local (broncoalveolar) y sistémico de vitamina en pacientes con tuberculosis y controles sin la enfermedad que pueda tener valor diagnóstico y terapéutico en esta condición.

Objetivos. Medir los niveles séricos y en lavado bronco alveolar de vitamina D a pacientes a quienes se les indicó fibrobroncoscopia por sospecha de tuberculosis u otras causas y determinar las diferencias en relación a controles infecciosos y no infecciosos. Se realiza medición de calcio sérico y albúmina a todos los pacientes.

Metodología. Estudio realizado en 2 fases. La primera fase con muestras de pacientes ya diagnosticados con tuberculosis y controles para evaluar la relación local de la vitamina D. La segunda fase prospectiva se realizó entre enero de 2018 y enero de 2019, se incluyeron pacientes del hospital universitario de Neiva a los que se les indicó realización de fibrobroncoscopia por sospecha de tuberculosis u otras causas. Se clasificaron los casos en 3 grupos: tuberculosis, controles infecciosos y controles no infecciosos. Se realizó medición de vitamina D en suero y en el lavado broncoalveolar de estos pacientes, así como estudios adicionales de perfil de calcio. Se incorporaron los datos en una matriz creada en Microsoft Excel 2016, se procesaron los datos con el programa SPSS versión 23 aplicando estadísticas descriptivas, medidas de tendencia central, dispersión y posición. Así mismo se empleó la prueba de Kuskal Wallis para evaluar asociación entre variables considerado con nivel de significancia dado por un valor de $p < 0,05$.

Resultados. Entre enero de 2018 y enero de 2019 se ingresaron 52 pacientes al estudio. 18 de ellos se clasificaron como tuberculosis, 24 como controles infecciosos y 10 como controles no infecciosos. Las características de la población en los 3 grupos de pacientes fueron homogéneas. Los niveles de vitamina D en suero de los pacientes con tuberculosis fueron más bajas que en los otros dos grupos con una media de 22,4 ng/mL frente a 33 ng/mL en los controles infecciosos y 32,6 ng/mL en los controles no infecciosos con diferencia estadísticamente significativa ($p=0,006$). En el lavado broncoalveolar los niveles de vitamina D fueron más bajos en los pacientes con tuberculosis con media de 9,7 ng/mL y en los controles no infecciosos con media de 9,1 ng/mL comparados con los controles infecciosos con media de 12,2 ng/mL con diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,012$). No hubo diferencias en los niveles de calcio y albúmina en los 3 grupos de pacientes.

Todos los pacientes con diagnóstico de tuberculosis recibieron tratamiento excepto uno por diagnóstico tardío.

Conclusiones Se estudiaron 52 pacientes en 3 grupos. Hubo diferencia significativamente estadística entre los niveles de vitamina D en suero y lavado bronco alveolar de los pacientes con tuberculosis pulmonar, siendo evidente de forma más notoria en los niveles séricos, guardando relación con el comportamiento local de la misma. Estos hallazgos sugieren que se debe evaluar el papel de la vitamina D tanto a nivel diagnóstico como también potencialmente terapéutico en pacientes con tuberculosis pulmonar como lo han venido mostrando estudios recientes con suplencia de vitamina D.

Palabras Claves: Tuberculosis, Tuberculosis pulmonar, TBC, vitamina D, lavado broncoalveolar.

SUMMARY

Key words: Introduction. Tuberculosis is a disease of high prevalence worldwide with a significant burden of morbidity and mortality. Multiple factors contribute to the presentation of this disease, including nutritional characteristics such as vitamin D sero-status. An important role in pathogenesis has been suggested as it participates in the antimycobacterial activity. The aim is to measure the local (bronchoalveolar) and systemic level of vitamin in patients with tuberculosis and controls without the disease that may have diagnostic and therapeutic value in this condition.

Objetive. To measure the serum and bronchoalveolar lavage levels of vitamin D in patients who underwent fibrobronchoscopy due to suspicion of tuberculosis or other causes and to determine the differences in relation to infectious and non-infectious controls. Serum calcium and albumin were measured in all patients.

Methodology. Study carried out in 2 phases. The first phase with samples of patients already diagnosed with tuberculosis and controls to evaluate the local relationship of vitamin D. The second prospective phase was carried out between January 2018 and January 2019, patients from the Neiva university hospital were included. He indicated fibrobronchoscopy for suspicion of tuberculosis or other causes. The cases were classified into 3 groups: tuberculosis, infectious controls and non-infectious controls. Vitamin D measurement was performed in serum and bronchoalveolar lavage of these patients, as well as additional studies of calcium profile. The data was incorporated into a matrix created in Microsoft Excel 2016, the data were processed with the SPSS program version 23 applying descriptive statistics, measures of central tendency, dispersion and position. Likewise, the Kuskal Wallis test was used to evaluate the association between variables considered with a level of significance given by a value of $p < 0.05$.

Results. Between January 2018 and January 2019, 52 patients were admitted to the study. 18 of them were classified as tuberculosis, 24 as infectious controls and 10 as non-infectious controls. The characteristics of the population in the 3 groups of patients were homogeneous. Serum vitamin D levels in patients with tuberculosis were lower than in the other two groups with a mean of 22.4 ng / mL versus 33 ng / mL in the infectious controls and 32.6 ng / mL in the noninfectious controls with a statistically significant difference ($p = 0.006$). In bronchoalveolar lavage, vitamin D levels were lower in patients with tuberculosis with a mean of 9.7 ng / mL and in non-infectious controls with a mean of 9.1 ng / mL compared with infectious controls with a mean of 12 , 2 ng / mL with statistically significant difference ($p = 0.012$). There were no differences in calcium and albumin levels in the 3 groups of patients. All

patients diagnosed with tuberculosis received treatment except one for late diagnosis.

Conclusions. We studied 52 patients in 3 groups. There was a statistically significant difference between the levels of serum vitamin D and bronchoalveolar lavage in patients with pulmonary tuberculosis, being more evident in the serum levels, keeping in relation to the local behavior of the same. These findings suggest that the role of vitamin D should be evaluated both at the diagnostic and potentially therapeutic levels in patients with pulmonary tuberculosis, as recent studies with vitamin D substitution have shown.

Key words: Tuberculosis, pulmonary Tuberculosis, TBC, vitamin D, washed bronchoalveolar

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, transmisible de gran importancia para la salud pública mundial. Esta patología probablemente surgió hace aproximadamente 70.000 años, y acompañó los procesos de migración de humanos desde el África al resto del mundo(Comas et al., 2013). Es aún una epidemia global y si no se trata puede alcanzar tasas de mortalidad hasta el 70% para personas infectadas con baciloscopias positivas(Tiemersma, van der Werf, Borgdorff, Williams, & Nagelkerke, 2011).

Durante los últimos 2 siglos, ha causado el fallecimiento de aproximadamente 1 billón de personas, permaneciendo dentro de las primeras 10 causas de muerte a nivel mundial y como una significativa etiología de discapacidad pulmonar crónica(Dheda, Barry, & Maartens, 2016).

Por lo anterior, a lo largo de la historia se han diseñado múltiples estrategias para controlar esta enfermedad, aun no del todo exitosas, pese a los cambios recientes de la epidemiología mundial (tendencia a la disminución de la prevalencia)(Dheda et al., 2016).

Todos los esfuerzos de investigación realizados con el objetivo de implementar estrategias más eficientes para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento son necesarios en todas las latitudes; la lucha activa y en los países en especial donde la enfermedad es endémica son de las mejores oportunidades que tendremos para lograr el control de esta enfermedad.

1. JUSTIFICACIÓN

Desde hace varios años y de variada evidencia, se conocen otras funciones de la vitamina D, más allá del metabolismo del calcio.

Dentro del sistema inmunológico parece tener un rol significativo en distintos niveles no solo dentro de la función celular sino también en la defensa de contra distintos patógenos.

Datos de estudios preliminares y en diversas poblaciones, han mostrado que el estado de deficiencia de la misma como también de insuficiencia tienen un papel mayor en la predisposición para presentar enfermedad e infección activa por tuberculosis.

También hay datos contradictorios entre los niveles séricos de vitamina D y los de catelicidina como de otras citoquinas importantes (interferón gama, IL17) en estos pacientes.

Más importante aún, a la fecha son pocos los estudios diseñados a evaluar la producción a nivel local (pulmonar) tanto de vitamina D.

Es importante aclarar este interrogante, pues si los niveles séricos se relacionan con la producción a nivel local no solo de vitamina D sino de citoquinas inflamatorias, tendríamos una base importante para plantear estudios de intervención terapéutica con un tratamiento que a la fecha muestra resultados contradictorios.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis continúa siendo un serio problema de salud pública mundial, una de las principales causas de morbi-mortalidad y de sufrimiento en especial en los países en vía de desarrollo. Es por eso que siempre debe estar dentro de las políticas de salud pública en cuanto a prevención, diagnóstico temprano y tratamiento oportuno para lograr un control de la enfermedad, que a la fecha y pese a todos los esfuerzos mundiales no se ha logrado conseguir.

Colombia y nuestro departamento no deben ser ajenos a esta problemática, pues aún es una patología endémica, con tasas de incidencia y prevalencia a la fecha importantes lo que obliga a que todos los entes que participamos en la atención en salud, realicemos todos los esfuerzos para tratar de lograr el objetivo de controlar y siendo un poco optimistas erradicar dicha enfermedad.

Desde la investigación podemos contribuir a una mejoría en nuestros conocimientos de la historia natural de la enfermedad y con los nuevos conceptos de la misma podremos plantear no solo tratamientos alternativos sino también manejos complementarios que mejoren los resultados de los tratamientos con los que contamos actualmente.

Por esto hemos planteado la siguiente pregunta de investigación.

Pregunta de investigación: ¿Cuáles son los niveles de vitamina D en el lavado broncoalveolar de los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neivay su posible relación con los niveles séricos de la misma?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de vitamina D séricos y sus concentraciones en el lavado broncoalveolar en pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar en un hospital de referencia de tercer nivel del Sur de Colombia.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Identificar las características clínicas y sociodemográficas de los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar.

Determinar la producción local de vitamina D en paciente con y sin tuberculosis pulmonar.

Establecer si los niveles séricos de vitamina D se relacionan con el estado de calcio o comorbilidades del paciente.

Evaluar la relación de los niveles séricos de vitamina D y los niveles locales de la misma tanto en pacientes con tuberculosis pulmonar confirmada, como en los que no se confirme la misma.

4. ANTECEDENTES

Tanto la desnutrición proteico calórica con las deficiencias de micronutrientes generan una disfunción de la inmunidad celular una importante medida de protección contra la tuberculosis (Cegielski & McMurray, 2004). Una vez la enfermedad se desarrolla, ésta en si genera un estado catabólico que resulta en un balance negativo de nitrogenados y deficiencias de micronutrientes. Generaciones de médicos que han tratado estos pacientes han pensado que el soporte nutricional es una medida crucial para el cuidado de los mismos. Sin embargo, ¿Por qué ha sido difícil de probar en pruebas aleatorizadas, controladas que las intervenciones nutricionales mejoran los resultados de los esquemas terapéuticos?; los datos de las revisiones sistemáticas han demostrado que, si bien no hay beneficios consistentes en los resultados específicos de tuberculosis, si se mejora el estado nutricional de los pacientes. (Grobler, Nagpal, Sudarsanam, & Sinclair, 2016; Lodha et al., 2014; Sinclair, Abba, Grobler, & Sudarsanam, 2011)

En los últimos 30 años, los investigadores han descubierto muchos papeles y mecanismos de la vitamina D tanto en el sistema inmune innato como en el adaptativo(Hewison, 2012). La vitamina D promueve la eliminación del mycobacterium tuberculosis por medio de la destrucción medida por los macrófagos(Bruns & Stenger, 2014). Dentro de los mecanismos puntuales, la transcripción de la catelecidina que es completamente dependiente de niveles suficientes de vitamina D; esta sustancia genera destrucción de las membranas micobacterianas en el fagosoma-lisosoma en los macrófagos(Aranow, 2011).

Lo anterior ha generado que se realicen varias pruebas de fase 2 de suplementación de vitamina D, la mayoría sin mostrar beneficio sustancial en términos de resultados asociados con la enfermedad(A. K. Coussens et al., 2012; Ralph et al., 2013; Salahuddin et al., 2013). Con un adecuado diseño y metodología de los estudios mencionados, el tiempo medio de conversión de cultivo de esputo fue similar entre los pacientes en los grupos placebo y de vitamina D; también la proporción de pacientes con cultivo positivo a los 2 meses. ¿Esto significa que la suplementación no es de valor en el manejo de la tuberculosis pulmonar?

La respuesta a la pregunta anterior aun no es clara. Si bien la molécula estimula la destrucción mediada por macrófagos de las micobacterias, estas también regulan esta respuesta induciendo mecanismos que inactivan algunos aspectos de la respuesta inmunológica y modulan otros. La vitamina D en si induce mecanismos que inactivan la vitamina D y la respuesta inmune innata asociada a la misma y la inflamación (Bhalla, Amento, Serog, & Glimcher, 1984). En términos del sistema inmune adaptativo, la vitamina D suprime la respuesta celular Th1 que es crucial

contra la defensa de las micobacterias y promueve una predominancia de una respuesta de tipo Th2 con tolerancia inmunológica, inmunidad humoral y defensa contra infecciones virales (Penna & Adorini, 2000).

Algunos autores han sugerido que la actividad antimicobacteriana de la vitamina D puede operar a nivel inicial en la implantación e ingestión del bacilo por los macrófagos alveolares y las células dendríticas (Liu et al., 2006). En otras palabras, esto significa que esta vitamina puede ser importante para la prevención de la enfermedad sintomática; más que unas dosis dadas en momentos discretos después del desarrollo de la enfermedad activa, los niveles constantes de suficiencia pueden ser importantes para evitar la enfermedad. Esta respuesta inicial además es dependiente no solo de la vitamina D, o también de varios micronutrientes y del estado nutricional, así la optimización de la respuesta inicial puede requerir la consideración de un estado nutricional más amplio. Las pruebas clínicas de conversión del esputo pueden estar mal direccionadas si la mayor acción de la vitamina D en la enfermedad activa es mitigar la respuesta inflamatoria e inmune (A. K. Coussens et al., 2012; Salahuddin et al., 2013). Esta función se puede evidenciar mejor en la a través de la restricción del daño tisular y prevención de la recaída más que con la aceleración de la conversión del esputo; sin embargo, realizar estos estudios demanda mayor tiempo, costo y son más difíciles de hacer. En cuanto a pruebas clínicas de evaluación de los niveles de vitamina D en lavado broncoalveolar se cuentan con dos:

- Cadranel y colaboradores (Cadranel et al., 1988) en el año de 1988 investigaron la producción extra-renal de vitamina D en tuberculosis en un paciente con la enfermedad, hipercalcemia y niveles plasmáticos elevados de $1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$, por medio de la obtención de macrófagos alveolares y células frescas cultivadas del lavado broncoalveolar. Aquí demostraron que el metabolito activo de la vitamina D [$1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$] se sintetiza antes y después de los 9 meses de una terapia antimicrobiano completa. La capacidad continua de producción de la vitamina D estuvo asociada con alveolitis linfocítica persistente en el paciente. La producción extra-renal de la misma probablemente contribuyó a los niveles plasmáticos aumentados en el paciente. No obstante, no observaron una correlación estrecha entre los niveles de cálcico y el metabolito activo de la vitamina D. Sus hallazgos sugirieron que, aunque la producción extra-renal de la vitamina D ocurre en la tuberculosis esta anomalía no es la principal explicación del estado alterado del metabolismo del calcio que se aprecia en estos pacientes.
- Estos mismos autores (Cadranel et al., 1990) posteriormente realizaron un estudio con el objetivo de comparar la producción extra-renal de la vitamina D ($1,25 (\text{OH})_2 \text{D}$) en diferentes tipos de enfermedades granulomatosas e identificar cuáles

eran las células fuente de la misma, esto por medio de la conversión del metabolito inactivo a la forma activa [1,25 (OH)₂ D] en células no cultivadas pero obtenidas del lavado broncoalveolar y mononucleares en sangre periférica de pacientes normocalcémicos con sarcoidosis y tuberculosis. La vitamina D se produjo en ambos tipos de células: células del lavado (12/12 pacientes con tuberculosis y 2/6 pacientes con sarcoidosis) y mononucleares (3/5 pacientes con tuberculosis y 0/3 pacientes con sarcoidosis) sin embargo, no fue así para los controles. Por otro lado, los niveles fueron significativamente mayores entre las células del lavado broncoalveolar de los pacientes con tuberculosis comparado con los pacientes de sarcoidosis (P<0.001). La producción del metabolito activo de la vitamina D en el lavado en los pacientes con tuberculosis se correlaciono con el número de linfocitos T CD8 pero no con otros tipos celulares. Los linfocitos T fueron una fuente significativa de producción de la vitamina D, pues luego de la purificación dichas células todas mantenían esta capacidad y su producción se correlaciono estrechamente con la producción de las células no purificadas. Sus resultados soportaban la conclusión previa que la interacción linfocito-macrófago mediada en parte por la vitamina D activa, era un importante componente de la respuesta inmune antituberculosa exitosa.

De manera más reciente Yamshchikov y colaboradores (Yamshchikov et al., 2010) realizaron un estudio con el objetivo primario de evaluar la relación entre los niveles séricos de vitamina D, la catelicidina en pacientes con tuberculosis activa en 95 muestras del banco sérico del estudio TUBERCULOSIS TRIALS CONSORTIUM. La prevalencia encontrada de insuficiencia de vitamina D [25(OH)D <30 ng/mL] en pacientes con tuberculosis activa fue de 86% con una concentración media de base de 20.4 ng/ml. La concentración media (+o- SD) de la catelicidina fue de 49.5 +o- 23.8 ng/ml. Las mayores concentraciones se correlacionaron con esputo positivo y un peso >10% debajo del peso corporal ideal. Lo anterior mostrando que no se encontró que el estado sérico de la vitamina D no se relaciona con las concentraciones de la catelicidina sérica.

Zhan y colaboradores (Zhan & Jiang, 2015) en China realizaron un estudio donde buscaban ver el estado de vitamina D, la catelicidina y las citoquinas (interferón gamma, IL4 e IL7) en los linfocitos Th en pacientes con tuberculosis pulmonar y diabetes mellitus factor de riesgo ampliamente conocido para la enfermedad. Por medio de la medición sérica de los mismos ellos encontraron que los pacientes con tuberculosis sin diabetes y los pacientes diabéticos con tuberculosis tenían niveles en rango de deficiencia o insuficiencia de vitamina D. los niveles de la catelicidina y las citoquinas de producción en linfocitos T, fueron mayores en los pacientes con tuberculosis con o sin diabetes que en los pacientes controles. Nuevamente no se halló una correlación entre los niveles séricos de vitamina D y catelicidina.

A la fecha no se cuentan con estudios que traten de la correlacionar la producción local (pulmonar) de citoquinas antituberculosas, catelicidina y niveles de vitamina D en pacientes con tuberculosis o sospecha de la enfermedad y su relación con el estado sérico de la misma [25 (OH)² D]

5. MARCO TEORICO

La tuberculosis es una enfermedad infecto-contagiosa, que se trasmite casi exclusivamente por aerosoles, causada por el *Mycobacterium tuberculosis complex* y caracterizada patológicamente por inflamación granulomatosa necrotizante usualmente en el pulmón (85%) de los casos, aunque casi cualquier sitio fuera del mismo puede ser comprometido. Probablemente emergió hace 70.000 años acompañando la migración de los humanos desde el África (Comas et al., 2013); es aún una plaga mundial y si no se trata tiene una mortalidad del 70% para las personas que tiene una baciloscopia positiva (Tiemersma et al., 2011). Esta enfermedad ha matado a 1 billón de personas en los últimos dos siglos (Comas et al., 2013) y está dentro de las 10 principales causas de muerte en el mundo, generando además importante discapacidad pulmonar en los países donde es endémica.

5.1 EPIDEMIOLOGÍA

Aunque la incidencia ha declinado lentamente en los últimos 15 años a una tasa de 1.5% por año la carga de la enfermedad es sustancial. En el año 2013, fueron reportados 9 millones de casos nuevos de tuberculosis (126 casos por 100.000) de los cuales el 60% de los casos se concentraron en países de alta carga de la enfermedad. Sin embargo, se estima que la tasa de detección de casos solo corresponde al 64% del total y de manera preocupante 3.3 millones de casos fueron no diagnosticados o no reportados. En contraste la mortalidad ha declinado sustancialmente en los últimos 20 años de 30 casos por 100.000 a 16 casos por 100.000 personas para el 2013. Para este mismo año, cerca de 1.1 millones de personas se estimó tenían coinfección VIH (virus de inmunodeficiencia humana)-Tuberculosis, de los cuales el 80% de los casos ocurrieron en África; las muertes de tuberculosis asociadas a VIH sumaron el 25% del total del número de muertes asociadas a tuberculosis. En el 2013, 480.000 nuevos casos de tuberculosis multi-drogo resistente se estimó ocurrieron a nivel mundial con aproximadamente 210.000 muertes relacionadas.

Los casos de tuberculosis multi-resistente se reportaron en 3.5% de casos nuevos y 20.5% de los casos re-tratados. Para el mismo año se reportaron 550.000 casos en niños y 80.000 muertes en esta población fueron reportados en co- infección por HIV (Dheda et al., 2016; Zumla et al., 2015).

De acuerdo a datos de la organización mundial de la salud en su informe mundial sobre la tuberculosis del año 2016, para el año 2015 se reportó una incidencia de

TB de 10.4 millones de los cuales 11% representaban pacientes con VIH. El 60% de los casos se dio en India, Indonesia, China, Nigeria, Pakistán y Sudáfrica. El número estimado de nuevos casos multirresistentes fue de 480000 y el número de muertes fue de 1.4 millones. Con este panorama, la tuberculosis continúa siendo una de las diez principales causas mundiales de muerte en 2015(Dheda et al., 2016; Zumla et al., 2015).

Los factores de riesgo claves asociados con tuberculosis incluyen: la pobreza y sobre-población, desnutrición, abuso de alcohol, la infección por VIH, la silicosis, la enfermedad renal con necesidad de diálisis, cambios fibro-apicales en la radiografía, la diabetes, el tabaquismo y la terapia inmunosupresora(Lawn, Badri, & Wood, 2005; Melsew et al., 2018). Sin embargo, el riesgo atribuible el cual varía de acuerdo a la carga global del factor de riesgo asociado se ha estimado de la siguiente manera: VIH (11%), tabaquismo (15.8%), diabetes (7.5%), alcoholismo (9.8%), desnutrición (26.9%), polución del aire (22.2%)(Lonnroth et al., 2010). Estos datos tienen implicaciones obvias en salud pública y ponen a la luz la necesidad de integración de los servicios de comunitarios y no comunitarios. Estudios de modelos pese a sus grandes limitaciones, sugieren que la eliminación de la tuberculosis es solo probable que se logre para el año 2050 si las intervenciones diagnósticas y terapéuticas (detección temprana de casos y altas tasa de curación) son combinadas con estrategias preventivas (vacunas y tratamiento de tuberculosis latente los 2 billones de personas reservorios en pacientes de países alta y baja carga)(Dye, Glaziou, Floyd, & Raviglione, 2013).

5.2 PATOGÉNESIS

5.2.1 Patógeno. La tuberculosis es causada por un grupo de bacterias agrupados en el complejo mycobacterium tuberculosis; de estos el más importante es el subcomplejo M.Tuberculosis, pero rara vez M. canetti, M.microti, M.africanum, M.bovis. Las mycobacterias son inmóviles, no formadores de esporas, aeróbicos, en forma de bastón de 2-4 micrómetros de longitud y posee una pared celular rica en lípidos lo que le da la propiedad de ser resistentes a los ácidos por lo que se conocen como bacilos ácido alcohol resistente que les confiere resistencia a muchos desinfectantes o antibióticos. Ellos se dividen como especies de crecimiento lento o rápido. M. Tuberculosis (así nos referiremos a M. tuberculosis subcomplejo tuberculosis) es una micobacteria de crecimiento lento, no pigmentado y con apariencia de “pan rallado” en los medios de cultivo. El genoma completo de Tuberculosis (cepa H37Rv) fue secuenciada completamente en 1998. Subsecuentes estudios completaron dichos trabajos en otras cepas clínicas. Seis mayores líneas geográficas de M.Tuberculosis han sido identificadas: la Euro-Americano, Indo-oceanica, Este-asiatico (incluidas las cepas de Beijing), oeste-Africano 1 y 2 y este-africano-indio. Muchos estudios han intentado identificar

diferencias específicas del linaje en virulencia clínica o transmisibilidad, pero los resultados han sido conflictivos. Estas diferencias pueden ser el resultado de diferencias en las cepas particulares usadas para la comparación, variación en la genética del huésped, influencias ambientales o diferencias en la metodología de los mismos(Heemskerk, Caws, Marais, & Farrar, 2015).

5.2.2 Transmisión. La transmisión de la tuberculosis ocurre cuando el organismo aerolizado por medio de la tos de un paciente infectado es inhalado dentro del alveolo de un nuevo huésped. En algunos casos, la transmisión es más alta dentro de las unidades familiares, pero los brotes en cualquier escenario son comunes, desde las escuelas hasta la fabricas y el transporte público. 2 estudios(Alland et al., 1994; Small et al., 1994) en el escenario de baja incidencia usaron métodos moleculares involucrando elementos genéticos repetitivos para mostrar que una gran fracción de los casos, incluso en el escenario de baja incidencia, fueron el resultado de trasmisión reciente más que de reactivación de una enfermedad latente(Dheda et al., 2016).

5.2.3 Resultados después de la infección. La exposición al bacilo de la tuberculosis de manera infrecuente conduce a enfermedad sintomática. Así, aunque la estadística que 1/3 de la población mundial está infectada suene alarmante, solo 12% de los pacientes desarrollaran la enfermedad(Vynnycky & Fine, 1997). El desarrollo de la enfermedad es una función de la inmunocompetencia del huésped; los individuos con VIH por ejemplo están en riesgo mayor de progresión a enfermedad activa. Sin embargo, el desarrollo de la enfermedad es también un reflejo de la estrategia evolutiva del M. tuberculosis como patógeno, el cual durante la existencia humana necesita asegurar su transmisión a nuevos huéspedes. Dicho germen ha hecho un delicado acto de balance: causa enfermedad para asegurar la transmisión, pero no tan severa como para que el paciente muera tomando su progenie con él. Los resultados de estudios en primates no humanos que son el reservorio natural del patógeno, han mostrado varias características clave a las que previamente nos pudimos referir como tuberculosis latente(Robertson et al., 2012). Como en el humano, la infección en el macaco *Cynomolgus* solo ocasionalmente procede directamente a infección sintomática en una fracción de los animales. Los restantes controlan la infección a una extensión variable(Capuano et al., 2003). Los animales asintomáticos infectados, parecen ser clínicamente idénticos a los humanos con tuberculosis latente, incluyendo que muestran una fuerte tendencia a la reactivación de la infección cuando son tratados con anti-TNF(Lin et al., 2010).

Las necropsias de los primates no humanos con tuberculosis latente muestran un rango variable de la enfermedad, desde infección subclínica con características de lesiones activadas con replicación bacteriana a granulomas estériles o nódulos linfáticos infectados(Lin et al., 2014).

Como se mencionó por razones no claras, la mayoría de individuos infectados con *M.tuberculosis* (90%) no desarrollan la enfermedad. Luego de la inhalación del bacilo los individuos pueden tener uno de los siguientes resultados: 1. Fallar por registrar cualquier infección. 2. Infectarse pero que el organismo resuelva totalmente la infección. 3. Contener la infección, pero persistir el paciente en ausencia de enfermedad sintomática (la infección por tuberculosis latente) o 4. Desarrollar enfermedad progresiva. Se ha estimado que un tercio de la población mundial tiene infección latente y puede estar en riesgo de desarrollar enfermedad por tuberculosis con la edad o adquieran alguna inmunosupresión en el futuro. Los factores que resultan en reactivación de tuberculosis latente en ausencia de supresión inmune manifiesta no son bien entendidos, pero los individuos reservorios con tuberculosis latentes son una de las mayores barreras para la eliminación de la enfermedad(Heemskerk et al., 2015).

La susceptibilidad a la tuberculosis es influenciada por el medio ambiente, factores del patógeno y del huésped. La respuesta inmune juega un papel crucial en la defensa del huésped contra la micobacteria. Aunque numerosos polimorfismos genéticos han ido identificados que influyen la susceptibilidad a la tuberculosis, parece que en la gran mayoría de casos es un problema poligénico(Heemskerk et al., 2015).

5.2.4 Inmunopatogénesis. Después de la inhalación, las bacterias son ingeridas por macrófagos residentes. Luego una serie compleja de interacciones con el huésped, incluyendo un retraso en la inmunidad adaptativa, más macrófagos son reclutados al sitio y los linfocitos T específicos se acumulan con la formación del granuloma. Aunque los granulomas son típicamente pensados como protectores, los estudios han puesto a la luz la naturaleza dinámica de estos granulomas celulares y sugieren que este adicionalmente funciona como nicho protector que posibilita la replicación bacteriana(Ramakrishnan, 2012).

5.2.5 Respuesta inmune innata. Las células claves en la defensa innata contra *M.tuberculosis* son los macrófagos alveolares y las células dendríticas. Estas y otros tipos celulares reconocen las estructuras de las micobacterias por medio de patrones moleculares asociados con receptores de reconocimiento de patrones en la membrana celular, de estos los más estudiados son los receptores tipo peaje (Toll-Like receptors, TLR por sus siglas en inglés) TLR2, TLR4, TLR9. Los patrones moleculares asociados a patógenos tales como el lipoarabinomano, fosfatidilinositol y las proteínas de choque de calor (Hsp65 y Hsp70) y los ácidos nucleicos micobacterianos tales como las secuencias CpG, son reconocidos por los TLRs.

Cuando se produce esta interacción, las vías de señalización son activadas lo que conduce a la producción de citoquinas proinflamatorias en especial Factor de necrosis tumoral (TNF por sus siglas en inglés), interleuquina 1B, interleuquina 12 y óxido nítrico. La fagocitosis mediada por los receptores asociados a patrones moleculares relacionados con patógenos por los macrófagos es una característica esencial para la respuesta inmune innata. Las bacterias ingeridas son destruidas por la fusión del complejo fagosoma con los lisosomas y la acidificación (peróxido de hidrogeno y otros intermedios reactivos del oxígeno) sin embargo M.tuberculosis puede detener este proceso y evadir su destrucción. Esencialmente la respuesta inmune innata mediada por los macrófagos puede tener 3 resultados: 1. Necrosis células; 2. Apoptosis y 3. Supervivencia en los macrófagos infectados. Si la célula sufre necrosis, las micobacterias pueden ser liberadas y puede infectar nuevos macrófagos o diseminarse mientras que las membranas células de los cuerpos apoptóticos no se comprometen y las bacterias son destruida con los macrófagos. La supervivencia de los macrófagos infectados permite a las bacterias persistir y luego proliferar antes que la respuesta inmune adaptativa sea activada con células T específicas seleccionadas en los nódulos linfáticos regionales; generalmente 2-3 semanas después de la infección primaria(Heemskerk et al., 2015).

5.2.6 Respuesta inmune adaptativa. Las células dendríticas son los mediadores importantes entre la respuesta innata y la adaptativa; esta adicional a la fagocitosis presenta micobacterias vivas a linfocitos T Naive después de migrar a los nódulos linfáticos regionales. Después de la presentación del antígeno en los nódulos linfáticos, las células T CD4+ son activadas y migran al pulmón para impedir que el crecimiento micobacteriano progrese.

El papel crucial de los linfocitos T en la inmunidad contra las micobacterias es evidenciado por el dramático incremento de la susceptibilidad de los individuos con Infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). La susceptibilidad se incrementa a medida que el conteo de células CD4 disminuye. El interferón gamma, producido por las células T activadas, tienen un papel crucial en la protección contra la tuberculosis. Ratones Knock-out y humanos con genes del interferón gamma alterados son altamente susceptibles a enfermedad severa. Dicha molécula es esencial en la activación del macrófago y la destrucción intracelular de las micobacterias. El TNF alfa es otra citoquina clave producida por los macrófagos, las células dendríticas y células T; juega además un papel clave en la formación del granuloma, inducción del macrófago y tiene propiedades inmunoregulatoras. Pacientes utilizan agentes supresores del TNF están en un riesgo mayor de infección y reactivación. Una revisión de Cochraine de los inhibidores del TNF dados por cualquier indicación encontró un OR de 4.68 (IC 95% 1.18-18.6) para reactivación comparado con el grupo control. Sin embargo, esta también contribuye a una respuesta deletérea en el paciente con enfermedad progresiva(Heemskerk et al., 2015).

5.3 DIAGNOSTICO

5.3.1 Baciloscopia. La confirmación de la enfermedad todavía recae en la identificación o en el aislamiento del bacilo de Tuberculosis de una muestra clínica. Esto se logra con una microscopia de esputo para bacilos ácido alcohol resistente (baciloscopia), cultivo o pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. La muestra apropiada depende del sitio sospechado de infección la calidad de la muestra afecta en gran medida la probabilidad de un resultado positivo y por esto se debe tener cuidado e instruir al paciente en la producción de la muestra de esputo(Heemskerk et al., 2015).

El diagnóstico para la mayoría de pacientes en el mundo con sospecha todavía se hace con microscopia de esputo. La prueba desarrollada hace 100 años por Franz Ziehl y Frederich Neelsen es barata, simple, rápida y específica, pero solo es positiva en alrededor de la mitad de los pacientes con tuberculosis activa. La tinción de Ziehl-Neelsen explota las propiedades de las micobacterias de teñirse con Carbol-fuschina. La sensibilidad es esencialmente baja en niños y pacientes con VIH. En adición la prueba no es específica para *M.tuberculosis*, porque también detecta todas las bacterias ácido alcohol resistente no tuberculosas. La sensibilidad se puede incrementar con la concentración de muestras antes de la microscopia con centrifugación y filtración, pero la tinción directa es la metodología más aplicada para disminuir las limitaciones con respecto a recursos(Heemskerk et al., 2015).

5.3.2 Cultivos. El cultivo para *M. tuberculosis* es la técnica más sensible para el diagnóstico, pero debido a que el microorganismo es de crecimiento lento (tiempo de replicación 24-30 horas) en los cultivos de esputo, estos toman 4-6 semanas antes de ser positivos en medio sólido y en medio líquido de 10-21 días. Los cultivos de medio sólido son usualmente realizados en medio Lowenstein Jensen, Ogawa o Middlebrook 7H10/11. Cultivo en medio líquido es más y rápido que el medio sólido, pero es propenso a contaminación en algunos laboratorios. Los sistemas de cultivo líquido automatizado comerciales para micobacterias usan pruebas radiométricas, pero ahora se han reemplazado con fluorescencia basado en diversos sistemas que han mejorado la seguridad. El más extensamente usado es el sistema de MGIT (Bactec Mybacterial Growth Indicator Tube) el cual también puede ser usado para pruebas de susceptibilidad a los medicamentos de primera línea usando un Kit disponible comercialmente. Un cultivo es necesario para confirmar la susceptibilidad al medicamento, particularmente para medicamentos de segunda línea en casos de multidrogo resistencia(Heemskerk et al., 2015).

5.3.3 Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. Varias pruebas comerciales de amplificación de ácidos nucleicos están disponibles desde 1990. La detección de *M. tuberculosis* en una muestra clínica es generalmente menos sensible que las pruebas para otros patógenos debido al número relativamente bajo de bacilos presentes y a la dificultad para extraer eficientemente ADN de las micobacterias. El desarrollo de la prueba Line Probe permitió la detección simultánea de *M. tuberculosis* y determinación de resistencia a rifampicina y luego a isoniazida; sin embargo, estas solo se aplican a muestras positivas de esputo lo que limita su uso en el diagnóstico en sí. La prueba MTBDR-plus ha sido adaptada para aumentar la detección y uso en pruebas de esputo negativo pero los datos de evaluación a gran escala no están disponibles (Heemskerk et al., 2015).

El más importante avance en el diagnóstico de tuberculosis en las últimas décadas ha sido el advenimiento de la prueba GeneXpert MTB/RIF. Esta prueba fue originalmente desarrollada para pruebas de esporas de anthrax en la amenaza del bioterrorismo. Luego una prueba específica para detectar *m.tuberculosis* y resistencia simultánea a rifampicina. En el 2010 los resultados del estudio FIND en varios países demostró que la prueba detecta tuberculosis y resistencia a rifampicina con alta sensibilidad y especificidad comparado con el cultivo en medio líquido; confirmado por una revisión de Cochrane en 2013. Un factor en la implementación a gran escala fue el costo que se redujo con el apoyo de algunas fundaciones UNITAID, USAID, PEPFAR. Una mayor ventaja es la habilidad de detectar tuberculosis en muestras negativas para tuberculosis en pacientes infectados con VIH (Heemskerk et al., 2015).

Facilitando la detección temprana de tuberculosis, antes de que el esputo sea positivo, la aplicación de Xpert MTB/RIF debe tener un importante impacto en la cadena de transmisión y en la epidemia. Sin embargo, muchos pacientes diagnosticados por Xpert MTB/RIF quienes han iniciado tratamiento debido a hallazgos radiografía de tórax o clínicos compatibles con tuberculosis (Heemskerk et al., 2015).

5.4 VITAMINA D

5.4.1 Metabolismo de la vitamina D. La vitamina D se produce en la piel a través de la exposición a rayos ultravioleta. Sufre un proceso de transformación de 7-dehidrocolesterol a vitamina D3 o calcitriol. También se puede absorber a través de alimentos en forma de vitamina D3 o ergocalciferol (vitamina D2) (Borella, Neshar, Israeli, & Shoenfeld, 2014), la primera se absorbe de manera más eficiente en el intestino (Trang et al., 1998). Ambas formas hasta este punto son inactivas biológicamente.

El colecalciferol, independientemente de su forma de adquisición, es procesado por la enzima 25-hidroxilasa en el hígado para producir 25-hidroxi vitamina D (25 (OH) D). En el riñón, la 25-(OH) D es hidroxilada por la enzima 1 alfa hidroxilasa (CYP27B1) a la forma activa 1,25 dihidroxivitamina D (1,25 (OH)₂ D) también conocida como calcitriol(Borella et al., 2014) ². En el riñón la regulación de la producción de 1,25 (OH)₂ D es regulada por el calcio sérico y la hormona paratiroidea(DeLuca, 2004).

Los metabolitos de la vitamina D son transportados por proteínas de unión a la vitamina D (DBPs), aunque, en su forma libre, el calcitriol (clasificado como hormona esteroidea) actúa en receptores intracelulares de vitamina D (VDRs) para iniciar la señalización intracelular(Gombart, 2009). Este receptor es un factor de transcripción ligando dependiente perteneciente a la superfamilia de receptores hormonales esteroides/tiroides. El receptor retinoide X, un receptor nuclear para el 9-cis ácido retinoico es un compañero obligado del VDR en mediar la acción de la vitamina D(Kliwer, Umeson, Mangelsdorf, & Evans, 1992).

Las funciones clásicas de la vitamina D son la homeostasis del calcio y el metabolismo del hueso, sin embargo se han identificado en el organismo receptores de vitamina D en otros tejidos, incluyendo el sistema inmune, de hecho todas las células del sistema inmune han demostrado expresar sus receptores, por lo cual actualmente se acepta al calcitriol como un regulador del sistema inmune(Grant & Holick, 2005).

5.4.2 Inmunomodulación. Se han estudiado múltiples efectos de la vitamina D sobre el sistema inmune desde la década de los 80's. Se ha descrito que inhibe la proliferación de células T y la secreción de ciertas citocinas(Provvedini, Tsoukas, Deftos, & Manolagas, 1983; Rigby, Stacy, & Fanger, 1984), inhibe además la transcripción de IL-2 , de IFN- γ , y la producción de IL-17 por las células Th17(Boonstra et al., 2001; Palmer et al., 2011). En modelos murinos se ha llegado a la conclusión de que estimula la producción de IL-4 mientras regula la producción de IL-17 e INF- γ , lo cual podría tener un papel importante en la regulación de enfermedades inmunes mediadas por estas citocinas(Cantorna, Snyder, Lin, & Yang, 2015).

Durante las infecciones las células del sistema inmune innato reconocen patrones de moléculas asociadas con grupos de patógenos (PAMPs), éstos son reconocidos por los receptores tipo Toll (TLR) los cuales estimulan la activación de la enzima CYP27B1 con la subsecuente producción de 1.25 (OH)₂ D₃ por las células del sistema inmune(Wang et al., 2004). La unión de la 1.25 (OH)₂ D₃ a sus receptores (VDR) conlleva a la expresión del gen beta defensina 4A (DEFB4A) que codifica la

beta defensina 4 y el gen encargado de la expresión de catelicidina. Ambos péptidos son mediadores intracelulares de la actividad antiviral y antibacteriana(Cantorna et al., 2015; Gombart, Borregaard, & Koeffler, 2005).

Además de los anteriores, otros factores antimicrobianos claves estimulados por la vitamina D incluyen especies reactivas de oxígeno, óxido nítrico sintasa y la forma activa de IL-1b la cual también estimula la producción de beta defensina(Rockett et al., 1998; Verway et al., 2013).

5.4.3 Vitamina D y tuberculosis. La asociación de vitamina D y tuberculosis se ha estudiado desde dos enfoques, el primero evalúa el papel protector de niveles adecuados de vitamina D contra la infección por tuberculosis que ha dado paso a interrogar la profilaxis para esta infección y el segundo busca estudiar el efecto terapéutico de la suplementación con vitamina D en la enfermedad activa.

5.4.4 Fisiopatología (Estudios in-vitro). Uno de los mecanismos por los cuales la tuberculosis ha representado un reto en cuanto a su manejo terapéutico está relacionado con su capacidad de ser una infección crónica al inhibir la activación de macrófagos, ya que una vez es fagocitado por los macrófagos puede inhibir la fusión de fagosomas con lisosomas lo que permite escapar de su acción bactericida y llevar a su supervivencia intracelular (Malik, Denning, & Kusner, 2000). Esto lo logra a través de la expresión de la proteína de recubrimiento que contiene triptófano y aspartato (TACO) dentro de los fagosomas(Anand & Kaul, 2005). Precisamente en este punto de la historia natural de la tuberculosis se cree que la vitamina D juega un papel importante, la activación de receptores tipo Toll (TLR) por PAMPs incrementa la expresión de CYP27B1, que convierte la 25 (OH) D a su forma activa 1.25 (OH)₂ D3 la cual induce la autofagia de células fagocíticas(Campbell & Spector, 2012).

Por otro lado, se ha comprobado que la 1.25 (OH)₂ D3 inhibe la actividad de metaloproteinasas (MMPs) por lo que de esta manera disminuye las cavitaciones típicamente asociadas a la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (MT)(A. Coussens et al., 2009).

5.4.5 Efecto protector (Estudios observacionales). La importancia de los niveles de vitamina D en la prevención de la tuberculosis se ha descrito con mayor fuerza desde 1985 cuando investigadores observaron que las personas residentes en Reino Unido que provenían de países con alta incidencia de infección latente por TB presentaban tasas de TB activa que incluso excedían las de sus países de origen , se asoció este hecho a que los inmigrantes presentaban deficiencia de

vitamina D que se debía probablemente a la disminución de exposición solar en Reino Unido (Davies, 1985; Martineau, 2012). Desde entonces se han realizado múltiples estudios que buscan reforzar esta teoría.

Los niveles de vitamina D son determinados a través de la medición de 25 (OH) D en plasma o suero, éste es el producto de la primera hidroxilación y es sintetizado en el hígado. El instituto norteamericano de medicina ha clasificado de la siguiente forma los valores: 50-125 nmol/L (20-50 ng/ml) como normal, niveles entre 30-49.9 (12-19.9 ng/ml) como inadecuados y niveles por debajo de 30 nmol/l (12 ng/ml) como deficientes mientras que niveles por encima de 125 nmol/l (50 ng/ml) como potencialmente perjudiciales(Ross et al., 2011).

En un estudio de casos y controles realizado en el año 2013 se compararon los niveles en plasma de 25 (OH) D en pacientes que recibieron tratamiento para tuberculosis respecto a pacientes que no habían presentado la enfermedad. Se encontró que los pacientes que recibieron tratamiento presentaban niveles más bajos de vitamina D (24.7 ng/ml Vs 33.6 ng/ml)(Huaman, Sterling, Shepherd, & Fiske, 2014). En Corea se realizó un estudio similar de casos y controles en el que se compararon los niveles de Vitamina D entre pacientes con TBC y pacientes sanos. Se concluyó que los pacientes con TBC tienen una mayor prevalencia de deficiencia de vitamina D (Casos 9.86 ng/ml, IQR 7.19–14.15; Controles 16.03 ng/ml, IQR 12.38–20.30, $P < 0.001$), además los niveles de vitamina D incrementaron después del tratamiento(Hong et al., 2014).

Resultados similares se encontraron en un meta-análisis publicado en el año 2015, se revisaron un total de 15 estudios que incluían 1440 casos y 2558 controles, los resultados indicaban que valores de 25 (OH) D menores a 12.5 nmol/l incrementaban de forma significativa el riesgo de tuberculosis (OR = 4.556, 95% CI = 2.200-9.435; 13-25 nmol/L: OR = 3.797, 95% CI = 1.935-7.405), no se encontró asociación con niveles mayores de 51 nmol/L(Zeng et al., 2015). Respecto al papel de la vitamina D en la respuesta al tratamiento anti-TBC, un estudio prospectivo realizado en Malawi con 169 pacientes encontró que no había relación entre los niveles de vitamina D respecto al desenlace del tratamiento y por otro lado, se encontró que los fármacos anti TB a pesar de sus efectos metabólicos no disminuían los niveles de vitamina D y por el contrario aumentaban sus niveles(Sloan et al., 2015).

También se ha buscado determinar los niveles de vitamina D en otros fluidos diferentes al plasma, en un estudio de casos y controles se midieron los niveles tanto en plasma como en líquido pleural en pacientes con tuberculosis y en pacientes sanos. Tuvieron en cuenta la relación entre la vitamina D y la vitamina A,

ya explicada, por lo que aparte de los niveles de colecalciferol incluyeron en la medición de 13-cis-ácido retinoico. Encontraron que los niveles de ambos compuestos fueron menores en pacientes con tuberculosis (Niveles de colecalciferol en plasma 67.45 (10.71) nmol/L y en líquido pleural 21.40 (8.58) nmol/L de pacientes con tuberculosis Vs pacientes sanos, plasma: 117.43 (18.40) nmol/L (P <0.001) y líquido pleural 94.73 (33.34) nmol/L (P = 0.0049) y niveles de ácido retinoico, casos 1.51 (0.72) nmol/L Vs controles 6.67 (0.81) nmol/L (P < 0.001)),(Srinivasan et al., 2013).

5.4.6 ¿Profilaxis con Vitamina D? Son pocos los estudios que han estudiado el papel de la administración de vitamina D en la profilaxis de tuberculosis. Hasta ahora la mayoría de la evidencia se concentra en el hecho de que en la mayoría de pacientes con tuberculosis hay niveles de vitamina D deficientes. Los estudios hasta ahora realizados en el campo de la profilaxis han utilizado la conversión de la prueba de tuberculina como método para evaluar la efectividad de la profilaxis, aquellos pacientes que presentaron conversión en esta prueba presentaban niveles significativamente menores de vitamina D(Arnedo-Pena et al., 2011; Ganmaa et al., 2012).

5.5 EFECTO TERAPÉUTICO

El efecto terapéutico de la vitamina D en la infección por tuberculosis no es un asunto reciente. Si bien actualmente se cuentan con estudios clínicos que ayudan a sustentar esta idea, la utilización de la vitamina D presenta una evolución histórica en el manejo de la tuberculosis.

5.5.1 Helioterapia. Los beneficios de la luz ultravioleta en el tratamiento de la tuberculosis cutánea se dieron a conocer en 1903 y fueron suficientes para ser motivo de entrega al Dr. Finsen del premio Nobel de Medicina. En ese mismo año, un suizo de apellido Rollier abrió las puertas de un hospital para el tratamiento de tuberculosis al usar diferentes grados de exposición solar(Roelandts, 2002; Selvaraj, 2011).

5.5.2 Aceite de hígado de bacalao. Fue uno de los primeros tratamientos indicados en 1770 para la tuberculosis, conociendo su contenido rico en vitamina D fue ampliamente usado en décadas posteriores. Los diferentes casos reportados hacían referencia a la resolución de síntomas, e incluso a reducción de la mortalidad de hasta el 19% debido al uso de este aceite(Grad, 2004).

5.5.3 Ensayos clínicos. Un ensayo clínico se realizó con el fin de determinar si el suplemento de vitamina D durante el tratamiento de TBC influía en la velocidad de recuperación. En el estudio SUCCINT (*Supplementary cholecalciferol in recovery from Tuberculosis*) se administró de forma aleatorizada a 259 pacientes con TBC 600000 UI de vitamina D3 intramuscular o placebo por 2 dosis. Después de 12 semanas los pacientes que recibieron vitamina D presentaron mayor ganancia de peso (3.75 Kg, (3.16 – 4.34) Vs 2.61 kg (95% CI 1.99 – 3.23) p 0.009), una rápida mejoría clínica y radiológica así como una activación del sistema inmune evidenciada en la mayor secreción de IFN-gamma en respuesta a MTBs(Salahuddin et al., 2013).

El efecto de la vitamina D en la tuberculosis activa se ha propuesto comprobar bajo el uso conjunto con la vitamina A, como hipótesis se ha propuesto administrar ambas vitaminas de forma inhalada con el fin de llegar de forma directa al sitio de infección. Sin embargo aún faltan estudios clínicos que comprueben esta teoría(Syal, Chakraborty, Bhattacharyya, & Banerjee, 2015). En diferentes ensayos clínicos se ha visto que la suplementación con vitamina D durante la fase activa de la enfermedad acelera su resolución y permite conversión de esputo mucho más rápido(Turnbull & Drobniowski, 2015).

Las dosis utilizadas varían en los diferentes estudios hasta ahora revisados. Nursyam et al encontraron un aumento significativo en la tasa de conversión de esputo después de administrar 0.25 mg/día de vitamina D durante la sexta semana de tratamiento inicial de TBC(Nursyam, Amin, & Rumende, 2006), Kota et al encontraron que 60000 UI/semana de vitamina D y 1 gr/día de carbonato de calcio también reducían el tiempo de conversión de esputo(Kota et al., 2011). Sin embargo, se debe tener en cuenta que todos los estudios varían respecto a las condiciones de base de los pacientes (comorbilidades, estado de nutrición, etc). De hecho en un estudio en el que se administraron 100000 UI de vitamina D solo se logró la conversión en el esputo en un grupo de pacientes que presentaban un polimorfismo en el gen del receptor de vitamina D, sugiriendo así la relación con factores genéticos(Martineau et al., 2011)

Como coadyuvante en el tratamiento de tuberculosis se realizó un estudio en el que a 95 pacientes que recibían manejo anti TBC se les administro de forma aleatorizada altas dosis de vitamina D (2.5 mg vitamina D3 cada 15 días) Vs placebo. Los resultados demostraron que aquellos que recibieron dosis de vitamina D presentaron de forma más rápida conversión del esputo y lograron recuperarse de efectos secundarios del tratamiento como linfopenia, monocitosis e hipercitocinemia de una manera más rápida. De hecho, el logro que resaltan en este estudio es la supresión de citocinas proinflamatorias las cuales se asocian a mayor riesgo de mortalidad(A. K. Coussens et al., 2012). Precisamente sobre este punto,

otros estudios han evidenciado que niveles deficientes de vitamina D se asocian con respuesta autoinmune en pacientes con tuberculosis.

Un estudio realizado en China con 386 pacientes con tuberculosis busco determinar la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) y determinar si se asociaba a deficiencia de vitamina D. Un total de 87 pacientes fueron positivos para ANAs. Se determinaron los niveles de 25 (OH)D en los 87 pacientes (ANA +) y en 87 pacientes (ANA-), encontrando que aquellos con anticuerpos antinucleares positivos presentaban niveles significativamente disminuidos de vitamina D (31.3 ± 15.1 vs 38.1 ± 14.6 nmol/l, $p=0.003$). Aunque la muestra se considera pequeña, es uno de los pocos estudios clínicos que evidencia el papel inmunomodulador de la vitamina D.(Li et al., 2012)

6. DISEÑO METODOLOGICO

6.1 TIPO DE ESTUDIO

Ambispectivo de casos y controles, de intervención diagnóstica.

El estudio se realizó en dos fases:

- La primera fase (retrospectiva) se efectuó utilizando las muestras almacenadas en el laboratorio de inmunología de la universidad Surcolombiana obtenidas de un estudio previo de casos y controles de pacientes que fueron llevados a broncoscopia con sospecha de tuberculosis pulmonar (patrón de interleuquinas secretadas localmente en pacientes con tuberculosis pulmonar con baciloscopia en esputo negativa y su relación con los hallazgos radiológicos).
- La segunda fase de tipo observacional prospectivo de casos y controles, de intervención diagnóstica.

6.2 POBLACIÓN

Pacientes mayores de 18 años que sean llevados a fibrobroncoscopia diagnóstica con toma de lavado broncoalveolar.

Pacientes quienes sean llevados a broncoscopia por otras causas infecciosas y no infecciosas, que acepten participar en el estudio

6.3 PERÍODO DE ESTUDIO

01 enero 2018 a 31 diciembre 2018

6.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes mayores de 18 años

Sospecha de tuberculosis pulmonar que sean llevados a fibrobroncoscopia diagnóstica.

Pacientes quienes sean llevados a broncoscopia por otras causas infecciosas y no infecciosas, que acepten participar en el estudio

6.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Menores de 18 años

Pacientes que no firmen el consentimiento informado de participación en el estudio. Datos incompletos de la historia clínica o paraclínicos.

6.6 MUESTRA

Por el tipo de estudio no es necesaria la determinación de un tamaño muestral.

6.7 RECOLECCIÓN DE DATOS

El instrumento de recolección de datos consiste en un formato a base de información sociodemográfica, clínica, microbiológica y de laboratorio de los pacientes que se incluyan.

Los pacientes se reclutarán en el departamento de neumología y serán aquellos que sean llevados a broncoscopia y que tengan sospecha de tuberculosis pulmonar del servicio de hospitalización y del servicio de consulta externa. Previa aceptación y firma de consentimiento informado de los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar se incluirán en el estudio para realizar análisis de laboratorio con medición tanto sérica como en lavado broncoalveolar de vitamina D. Se incluirán como controles pacientes con otras patologías infecciosas para las cuales se realice una

broncoscopia diagnóstica y además pacientes con patologías no infecciosas quienes cumplan demás criterios de inclusión del presente estudio.

Todas las muestras de sangre (10 ml para cada paciente incluido en el estudio) y del lavado broncoalveolar (10 ml por cada paciente incluido en el estudio) serán recolectadas en el Hospital Universitario de Neiva; la financiación del examen de Vitamina D se llevará a cabo por el laboratorio BIOMERIEUX COLOMBIA con el aporte de dos kits de Vidas® 25 OH Vitamina D para que sean procesados en el equipo Vidas instalado en el laboratorio Clínico del HUHMP.

Se dejarán 3 viales de muestra en la seroteca del laboratorio de inmunología e inmunidad para posteriores mediciones en caso de así requerirlos.

6.7.1 Seguridad del paciente. Para la toma de las muestras de sangre se realizará siguiendo las normas y guías internacionales respecto a la asepsia y antisepsia, con los implementos adecuados en cada paciente.

Antes de que se realice la broncoscopia los investigadores realizarán la lista de chequeo y se verificará su cumplimiento para la toma de broncoscopia según las normas del departamento de neumología del hospital universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva.

6.7.2 Recolección de muestras. Una vez los pacientes firmen el consentimiento informado se tomarán 2 muestras por cada uno: 10 ml de sangre periférica y 10 ml de líquido del lavado broncoalveolar. Dichas muestras se almacenarán en el laboratorio de inmunología e inmunidad de la universidad Surcolombiana (el lavado broncoalveolar) y se procesará la muestra de sangre de manera inmediata para medir los niveles de vitamina D siguiendo las indicaciones del laboratorio BIOMERIEUX.

6.7.3 Tabulación de la información. Los datos se tabularán en una base de datos utilizando el programa Excel para Windows 2016, para agrupación y codificación de variables.

6.7.4 Análisis de la información. Para todos los análisis de datos se utilizará el paquete estadístico SPSS versión 23, con el cual se generaron estadísticas descriptivas (frecuencias y proporciones) para las variables cualitativas, medidas de tendencia central (media, mediana), medida de dispersión (Desviación estándar) y

medidas de posición (mínimo, máximo y rango). Para identificar la asociación entre variables se empleó la prueba prueba Kruskal Wallis. En todos los casos se tuvo en cuenta un nivel de significación estadística cuando el valor $p < 0,05$.

7. ASPECTOS ETICOS

Teniendo como base la Resolución 8430 de 1993 y la ley 23 de 1981, la privacidad de los individuos, sujetos de investigación se protegerá debido a que las muestras serán identificadas con un código del laboratorio y el nombre de cada individuo solo será conocido y manejado por el investigador principal. La identificación de nombre no será revelada por ningún motivo durante ni después del estudio. Los sujetos de la investigación estarán bajo un riesgo mínimo, ocasionado por la toma de muestra por medio de venopunción. Según el artículo 11 de la resolución 8430 de 1993, la investigación se clasifica como de riesgo mínimo: “son estudios prospectivos que emplean el registro de datos a través de procedimientos comunes consistentes en: exámenes físicos o psicológicos de diagnóstico o tratamientos rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, electrocardiogramas, pruebas de agudeza auditiva, termografías, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, recolección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimientos profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a grupos o individuos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico y registrados en este Ministerio o su autoridad delegada, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos que se definen en el artículo 55 de esta resolución “.

Para el desarrollo de la investigación se tendrán en cuenta los principios bioéticos de respeto a la dignidad humana, libertad de expresión y sentimientos, confidencialidad y reciprocidad. A los participantes se les dará a conocer los objetivos y los procedimientos a realizar. Los individuos que en plena libertad y por voluntad propia deseen participar en el proyecto deberán firmar un consentimiento informado donde se especifiquen los principios éticos ya descritos. Se explicará que se realizará una toma de muestra de sangre por medio de venopunción, con riesgos mínimos para su salud. Adicionalmente, se le comunicara que se le preguntara acerca de información sociodemográfica que está en libertad de aportar.

Conforme a la ley 911 de 2004 se salvaguardará la dignidad, la integridad y los derechos de los sujetos del estudio, como principio ético fundamental. Los datos aportados por los participantes tendrán total confidencialidad y por ninguna razón serán divulgados como información individual. Ninguna entrevista o toma de muestra se llevará a cabo sin el respectivo consentimiento informado.

La presente investigación tiene una relevancia notoria para investigadores, pacientes, Hospital y la Universidad Surcolombiana.

Todo lo anterior partiendo del hecho de la ausencia de datos concluyentes en cuanto a la relación que pueda encontrarse en los niveles de vitamina D locales, séricos y la producción de citoquinas proinflamatorias a nivel local.

Esta relación de ser positiva sustentaría la continuidad de pruebas clínicas con miras a investigar dosis apropiadas que potencien el efecto potencial de sustancias que mejoren la efectividad del tratamiento actual de una patología tan importante para la salud pública de tuberculosis.

8. RESULTADOS

8.1 PRIMERA ETAPA

La primera fase del estudio se realizó con las muestras almacenadas en la seroteca del laboratorio de inmunología de la universidad Surcolombiana del estudio “patrón de interleuquinas secretadas localmente en pacientes con tuberculosis pulmonar con baciloscopia en esputo negativa y su relación con los hallazgos radiológicos” que fue un trabajo de casos y controles en donde se analizó el comportamiento de varias citoquinas (Factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma, interleuquina(IL)- 2, IL10, IL17, IL6).

Utilizando la técnica descrita se realizó la medición vitamina D en lavado broncoalveolar de dichas muestras. Los datos clínicos se muestran parcialmente por ser un trabajo en proceso de publicación a la fecha de la redacción del presente documento y con autorización de los autores.

Un total de 35 muestras se incluyeron en el análisis. Se realizaron 3 grupos de comparación: pacientes con tuberculosis pulmonar confirmada (n:9), controles infecciosos(n:12) y controles no infecciosos (n:14%). La mayoría de los pacientes en los 3 grupos eran de sexo masculino, con edades de 33, 59 y 57 años respectivamente. Los datos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Variables de caracterización clínicas y demográficas de los pacientes involucrados en el estudio. **promedio*, EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, HTA: hipertensión arterial, ERC: enfermedad renal crónica.

	Edad*	IMC*	Coinfección por VIH (%)	Principal comorbilidad (%)
Casos confirmados de tuberculosis	33 años	20.4	33%	EPOC (11.1%) ERC (11.1%)
Controles infecciosos	59 años	24.0	16%	HTA (41.6%) EPOC (33%)
Controles no infecciosos	57 años	22.8	0%	HTA (22.2%) ERC (22.2%) EPOC (11.1%)

Se detectaron niveles de vitamina D de manera frecuente en el grupo de controles no infecciosos (57%) comparado con los pacientes con tuberculosis en donde solo el 18% de la población presentó niveles detectables por la prueba utilizada. Como se puede observar en la tabla 2, dichos niveles fueron significativamente más bajos en los pacientes con tuberculosis comparado con los controles tanto infecciosos como no infecciosos.

Tabla 2. Clasificación del caso.

CLASIFICACIÓN DEL CASO		N	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Rango	p
NIVELES DE VITAMINA D EN BAL (ng/mL)	TBC	9	8,6	8,1	1,0	8,1	11,1	3,0	0,144
	C.INFECCIOSOS	12	10,6	8,1	5,4	8,1	25,1	17,0	
	C.NO INFECCIOSOS	14	13,6	9,3	7,1	8,1	28,5	20,4	

Fase 2. Se recolectaron datos de los pacientes que ingresaron a los servicios de programación ambulatoria, admisión urgencias, hospitalización y unidad de cuidado intensivo del Hospital Universitario de Neiva en el período comprendido entre enero de 2018 a enero de 2019, a quienes se les indicó realizar fibrobroncoscopia y lavado broncoalveolar bien sea por sospecha de tuberculosis o por otras indicaciones distintas. Se midieron los niveles de vitamina D tanto en suero como lavado broncoalveolar de estos pacientes, así como parámetros de metabolismo de calcio.

Con los criterios de inclusión del estudio se incluyeron 52 pacientes. El análisis se realizó con la clasificación de caso en 3 grupos de pacientes: Casos confirmados de tuberculosis, controles infecciosos (Infección pulmonar no tuberculosa) y controles no infecciosos. Del total de pacientes 18 fueron casos de tuberculosis confirmada, 24 controles infecciosos y 10 controles no infecciosos. (Gráfica 1). En relación con las características basales de la población, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los 3 grupos, siendo estos homogéneos (Tabla 3).

La mayoría de los pacientes fueron ingresados al estudio en el servicio de hospitalización (67,3%) seguido de urgencias (15,4%), unidad de cuidado intensivo (15%) y ambulatorio (1,9%).

De los 18 casos de tuberculosis 7 fueron diagnosticados por cultivo, 1 mediante PCR, 5 por hallazgos clínicos y 5 por estudios de imagen. De los 24 casos clasificados como controles infecciosos 2 fueron por traqueítis, 1 por neumonía

asociada al cuidado de la salud, 1 por neumonía asociada a ventilador, 2 por bronquitis infecciosa, 3 por exacerbación infecciosa de EPOC y 13 por diagnóstico de neumonía adquirida en comunidad. De los 10 casos clasificados como controles no infecciosos, la fibrobroncoscopia fue realizada en 3 de ellos para descartar reactivación de tuberculosis, 4 por lesiones de aspecto neoplásico y 3 por trauma.

De los pacientes con diagnóstico de tuberculosis confirmada las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la tos (88,9%) y la fiebre (83,3%) seguidas de sudoración (55,6%), disnea (55%), pérdida de peso (55,6%), diaforesis (56%), hiporexia (38%) y hemoptisis (22%).

En relación con los antecedentes relevantes 2 de estos pacientes tenían enfermedad renal crónica sin estar en hemodiálisis, un paciente tenía neoplasia hematolinfóide de tipo Linfoma no Hodgkin, un paciente tenía historia de trasplante renal en tratamiento con micofenolato de mofetilo, tacrolimus y prednisolona y un paciente tenía historia de tuberculosis. Ninguno de estos pacientes tenía antecedente de enfermedad por HIV y a uno de ellos se le diagnosticó de novo en la admisión hospitalaria mediante prueba ELISA. A todos los pacientes se les indicó tratamiento antituberculoso excepto a uno de ellos por pasar inadvertido el diagnóstico que se confirmó después por cultivo.

En los pacientes clasificados como controles infecciosos y no infecciosos las características sociodemográficas y de comorbilidades fueron similares.

Con respecto a los resultados primarios se encontraron niveles de vitamina D en suero considerablemente más bajos en relación con los controles tanto infecciosos como no infecciosos. (Tabla 4). La media del valor de vitamina D sérica en los casos de tuberculosis fue de 22,4 ng/mL (95% IC 14,2- 44,4 ng/mL), en los controles infecciosos la media fue de 33 ng/mL (95% IC 13,2- 50,4 ng/mL) y en los controles no infecciosos 32,2 ng/mL (95% IC 8,1-67 ng/mL) con una diferencia significativamente estadística para los casos de tuberculosis ($p = 0,006$). La media de los niveles de vitamina D en el lavado broncoalveolar de los pacientes con tuberculosis fue de 9,7 ng/mL (95% IC 8,1- 22,4 ng/mL), en los controles infecciosos de 12,2 ng/mL (95% IC 8,1 – 21,7 ng/mL) y en los controles no infecciosos de 9,1 ng/mL (95% IC 8,1 – 16,7 ng/mL), con diferencia significativamente estadística entre el grupo de tuberculosis y los controles infecciosos ($p= 0,012$). (Gráficas 2 y3).

Los percentiles de distribución 6 de cada 10 (60%) pacientes de control infeccioso tuvieron niveles de vitamina D en BAL mayores o iguales a 8,5ng/mL, mientras que 3 de cada 4 (75%) pacientes de Control no infeccioso y el 70% de los pacientes con tuberculosis tuvieron niveles menores o iguales a 8,1ng/mL. (Tabla 5). La

distribución porcentual de los niveles de vitamina D en suero se muestra igualmente en la Tabla 6.

No hubo diferencia estadísticamente significativa entre el perfil de metabolismo de calcio en los diferentes grupos evaluados. La media en los niveles de calcio sérico fue para los grupos de tuberculosis, controles infecciosos y controles no infecciosos de 8,6 mg/dL, 8,3 mg/dL y 8,6 mg/dL respectivamente ($p= 0,191$). La media de los niveles de albúmina para los casos de tuberculosis, controles infecciosos y controles no infecciosos fue de 2,9 g/dL, 2,7 g/dL y 3,1 g/dL respectivamente ($p=0,428$). (Tabla 7).

La mayoría de los pacientes estaban vivos al final de la hospitalización (80,8%), y los demás pacientes (19,2%) fallecieron casi todos en unidad de cuidados intensivos. De las muertes que se presentaron 5 fueron en el grupo de controles infecciosos, 2 en el grupo de controles no infecciosos y 3 en el grupo de pacientes con tuberculosis confirmada.

Grafica 1. Clasificación del caso.

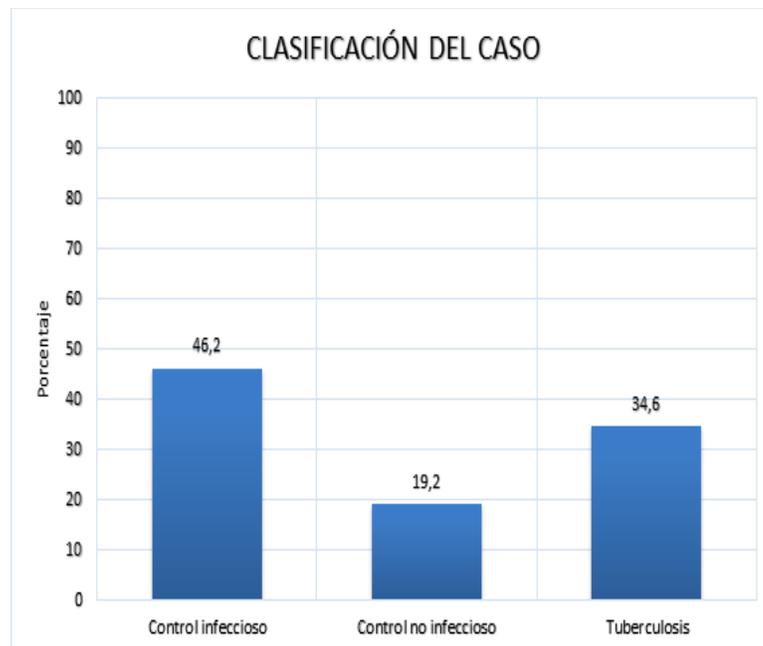


Tabla 3. Características basales de los grupos de pacientes.

		CLASIFICACIÓN DEL CASO					
		Control infeccioso		Control no infeccioso		Tuberculosis	
		n	Porcentaje	n	Porcentaje	n	Porcentaje
SEXO	Femenino	10	41,7	5	50,0	5	27,8
	Masculino	14	58,3	5	50,0	13	72,2
ANTECEDENTE DE CONTACTO CON PERSONAS CON TB	NO	23	95,8	9	90,0	16	88,9
	SI	1	4,2	1	10,0	2	11,1
ANTECEDENTE DE VACUNACION CON BCG	NO	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	SI	24	100,0	9	90,0	18	100,0
ANTECEDENTE DE PRUEBA DE TUBERCULINA	NO	22	91,7	9	90,0	17	94,4
	SI	2	8,3	1	10,0	1	5,6
PRUEBA DE TUBERCULINA POSITIVA O NEGATIVA	Negativa	1	4,2	0	0,0	1	5,6
	Positiva	1	4,2	1	10,0	0	0,0
HTA	NO	19	79,2	8	80,0	14	77,8
	SI	5	20,8	2	20,0	4	22,2
DIABETES MELLITUS	NO	20	83,3	10	100,0	15	83,3
	SI	4	16,7	0	0,0	3	16,7
EPOC	NO	17	70,8	10	100,0	14	77,8
	SI	7	29,2	0	0,0	4	22,2
ENF, HEMATOLOGICA CRONICA (A, FALCIFORME)	NO	24	100,0	10	100,0	18	100,0
ENFERMEDAD RENAL CRONICA	NO	19	79,2	9	90,0	16	88,9
	SI	5	20,8	1	10,0	2	11,1
ESTADIO DE ERC	IIIB	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	IV	1	4,2	1	10,0	1	5,6
	V	3	12,5	0	0,0	1	5,6
TERAPIA DE REPLAZO RENAL	SI	1	4,2	0	0,0	0	0,0
ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR ESTABLECIDA	NO	23	95,8	10	100,0	17	94,4
	SI	1	4,2	0	0,0	1	5,6
CUAL ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR	Enfermedad arterial	0	0,0	0	0,0	1	5,6
ENFERMEDAD AUTOINMUNE	NO	22	91,7	9	90,0	18	100,0
	SI	2	8,3	1	10,0	0	0,0
	ARTRITIS JUVENIL	1	4,2	0	0,0	0	0,0

CUAL ENFERMEDAD AUTOINMUNE	GRANULOMATOSIS EOSINOFILICA	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	SJOGREN	1	4,2	0	0,0	0	0,0
TRATAMIENTO ACTUAL	SI	2	8,3	1	10,0	0	0,0
CUAL TRATAMIENTO ACTUAL ENFERMEDAD AUTOINMUNE	CICLOFOSFAMIDA MICOFENOLATO	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	METOTREXATE PREDNISOLONA	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	PILOCARPINA	1	4,2	0	0,0	0	0,0
ANTECEDENTE DE TB	NO	23	95,8	9	90,0	17	94,4
	SI	1	4,2	1	10,0	1	5,6
RECIBIO TRATAMIENTO PARA TB	SI	1	4,2	1	10,0	1	5,6
CUAL TRATAMIENTO PARA TB	RHZE	1	4,2	1	10,0	1	5,6
INFECCION POR VIH	NO	23	95,8	9	90,0	18	100,0
	SI	1	4,2	1	10,0	0	0,0
	NO	1	4,2	1	10,0	0	0,0
OTRAS INFECCIONES EN ESTE MOMENTO	SI	24	100,0	0	0,0	4	22,2
CUAL "OTRA INFECCION" EN ESTE MOMENTO	BRONQUITIS INFECCIOSA	2	8,3	0	0,0	0	0,0
	EPOC EXACERBADO	3	12,5	0	0,0	0	0,0
	NEUMONIA ADQUIRIDA EN COMUNIDAD	13	54,2	0	0,0	3	16,7
	NEUMONIA ASOCIADA A VENTILADOR	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	NEUMONIA ASOCIADA AL CUIDADO DE LA SALUD	3	12,6	0	0,0	0	0,0
	TRAQUEITIS	2	8,3	0	0,0	0	0,0
CANCER ORGANO SOLIDO	NO	24	100,0	3	30,0	18	100,0
	SI	0	0,0	7	70,0	0	0,0
CUAL CANCER ORGANO SOLIDO	ADENOCARCINOMA DE PULMON	0	0,0	2	20,0	0	0,0
	CANCER DE PULMON	0	0,0	4	40,0	0	0,0
	TIMOMA	0	0,0	1	10,0	0	0,0
TRATAMIENTO ACTUAL CA ORGANO SOLIDO	NO	0	0,0	4	40,0	0	0,0
	SI	0	0,0	3	30,0	0	0,0
CUAL TRATAMIENTO ACTUAL CA ORGANO SOLIDO	DOXORRUBICINA + ISOFOSFAMIDA	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	LANREOTIDE	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	PACLITAXEL+CARBOPLATINO	0	0,0	1	10,0	0	0,0
NEOPLASIA HEMATO-LINFOIDE	NO	19	79,2	9	90,0	17	94,4
	SI	5	20,8	1	10,0	1	5,6
	LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	1	4,2	0	0,0	0	0,0

CUAL NEOPLASIA HEMATO-LINFOIDE	LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	LIFOMA HODGKIN	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	LINFOMA NO HODGKIN	2	8,3	0	0,0	1	5,6
	MIELOMA MULTIPLE	1	4,2	0	0,0	0	0,0
TRATAMIENTO ACTUAL NEOPLASIA HEMATO-LINFOIDE	NO	2	8,3	1	10,0	0	0,0
	SI	3	12,5	0	0,0	1	5,6
CUAL TRATAMIENTO ACTUAL NEOPLASIA HEMATO-LINFOIDE	CICLOFOSFAMIDA PREDNISOLONA	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	DASATINIB	1	4,2	0	0,0	0	0,0
	R-CHOP	1	4,2	0	0,0	1	5,6
HISTORIA DE TRASPLANTE	NO	22	91,7	9	90,0	17	94,4
	SI	2	8,3	1	10,0	1	5,6
CUAL HISTORIA DE TRASPLANTE	RIÑON	0	0,0	0	0,0	1	5,6
	TRASPLANTE RENAL	2	8,3	0	0,0	0	0,0
TRATAMIENTO ACTUAL HISTORIA DE TRASPLANTE	NO	0	0,0	0	0,0	1	5,6
	SI	2	8,3	0	0,0	1	5,6
CUAL TRATAMIENTO ACTUAL HISTORIA DE TRASPLANTE	MICOFENOLATO TACROLIMUS PREDNISOLONA	2	8,3	0	0,0	1	5,6
SUDORACIÓN	NO	18	75,0	6	60,0	8	44,4
	SI	6	25,0	4	40,0	10	55,6
HIPOREXIA	NO	15	62,5	5	50,0	11	61,1
	SI	9	37,5	5	50,0	7	38,9
FIEBRE	NO	8	33,3	5	50,0	3	16,7
	SI	16	66,7	5	50,0	15	83,3
TOS	NO	7	29,2	3	30,0	2	11,1
	SI	17	70,8	7	70,0	16	88,9
HEMOPTISIS	NO	22	91,7	7	70,0	14	77,8
	SI	2	8,3	3	30,0	4	22,2
PERDIDA DE PESO	NO	15	62,5	6	60,0	8	44,4
	SI	9	37,5	4	40,0	10	55,6
DISNEA	NO	10	41,7	3	30,0	8	44,4
	SI	14	58,3	7	70,0	10	55,6
TIPO DE ATENCIÓN	AMBULATORIO	0	0,0	1	10,0	0	0,0
	HOSPITALIZACIÓN	16	66,7	8	80,0	11	61,1
	UCI	6	25,0	0	0,0	2	11,1
	URGENCIAS	2	8,3	1	10,0	5	27,8
CONDICIÓN AL FINAL DE LA ESTANCIA HOSPITALARIA	MUERTO	5	20,8	2	20,0	3	16,7
	VIVO	19	79,2	8	80,0	15	83,3
PACIENTE CON TUBERCULOSIS CONFIRMADA	NO	24	100,0	10	100,0	0	0,0
	SI	0	0,0	0	0,0	18	100,0
	CLINICO	1	4,2	0	0,0	5	27,8

METODO DIAGNÓSTICO PARA LA TUBERCULOSIS	CULTIVO	0	0,0	0	0,0	7	38,9
	IMAGENOLÓGICO	0	0,0	0	0,0	5	27,8
	PCR	0	0,0	0	0,0	1	5,6
RECIBE TRATAMIENTO ANTI TB	NO	0	0,0	0	0,0	1	5,6
	SI	0	0,0	0	0,0	17	94,4
MEDICAMENTOS ANTI TB ACTUALES	RHZE	0	0,0	0	0,0	17	94,4
SE REALIZO PRUEBA DE VIH EN HOSPITALIZACION INDICE	NO	9	37,5	4	40,0	2	11,1
	SI	15	62,5	5	50,0	16	88,9
TIPO DE PRUEBA VIH	ELISA	15	62,5	5	50,0	16	88,9
RESULTADO PRUEBA VIH	NEGATIVA	14	58,3	4	40,0	15	83,3
	POSITIVA	1	4,2	1	10,0	1	5,6

Tabla 4. Niveles de vitamina D en BAL y suero de los distintos grupos de pacientes.

Variable		N	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Rango	p
NIVELES DE VITAMINA D EN BAL (ng/mL)	Control infeccioso	24	12,2	11,5	4,6	8,1	21,7	13,6	0,012
	Control no infeccioso	10	9,1	8,1	2,7	8,1	16,7	8,6	
	Tuberculosis	18	9,7	8,1	3,6	8,1	22,4	14,3	
NIVELES DE VITAMINA D EN SUERO (ng/mL)	Control infeccioso	24	33	35,2	10,3	13,2	50,4	37,2	0,006
	Control no infeccioso	10	32,2	29,3	15,6	8,1	67	58,9	
	Tuberculosis	18	22,4	19,5	8,4	14,2	44,4	30,2	

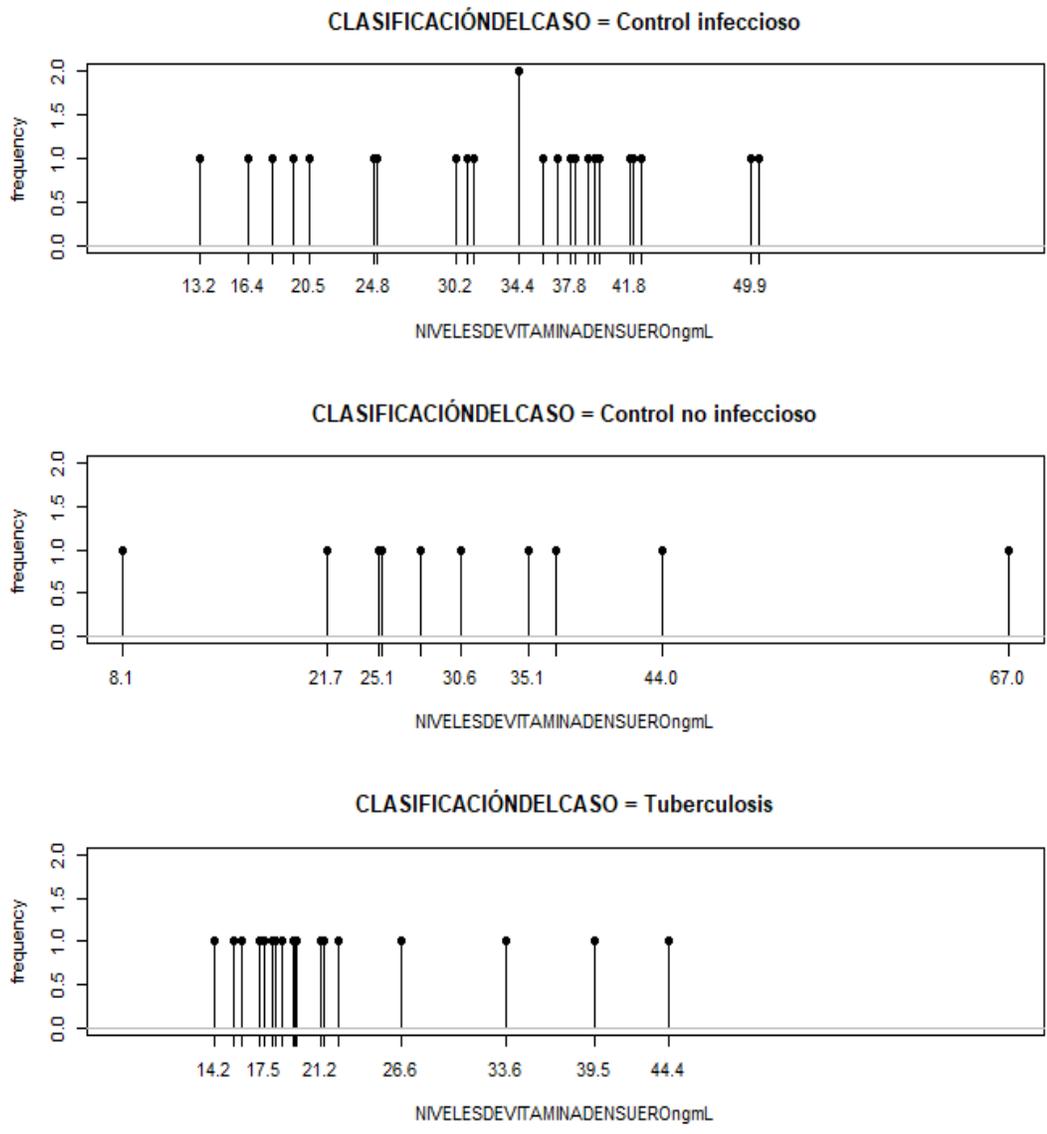
Tabla 5. Distribución en percentiles de niveles de vitamina D en BAL.

CLASIFICACIÓN DEL CASO	percentiles															n
	0%	10%	15%	20%	25%	30%	40%	50%	60%	70%	75%	80%	90%	100%		
Control infeccioso	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,5	11,5	12,5	14,0	14,8	17,4	18,1	21,7	24	
Control no infeccioso	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,4	10,5	16,7	10	
Tuberculosis	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,4	10,2	13,2	22,4	18	

Tabla 6. Distribución en percentiles de niveles de vitamina D en suero.

Niveles de vitamina D en suero g/ml	Percentiles															n
	0%	10%	15%	20%	25%	30%	40%	50%	60%	70%	75%	80%	90%	100%		
Control infeccioso	13,2	18,4	19,9	23,1	25,0	29,7	32,0	35,2	37,6	39,1	39,6	40,6	42,4	50,4	24	
Control no infeccioso	8,1	20,3	22,9	24,4	25,2	25,2	26,9	29,3	32,4	35,6	36,5	38,3	46,3	67,0	10	
Tuberculosis	14,2	15,8	16,7	17,3	17,6	18,0	18,6	19,5	19,9	21,4	22,2	24,9	35,4	44,4	18	

Grafica 2. Niveles de vitamina D en suero.



Grafica 3. Niveles de vitamina D en lavado broncoalveolar.

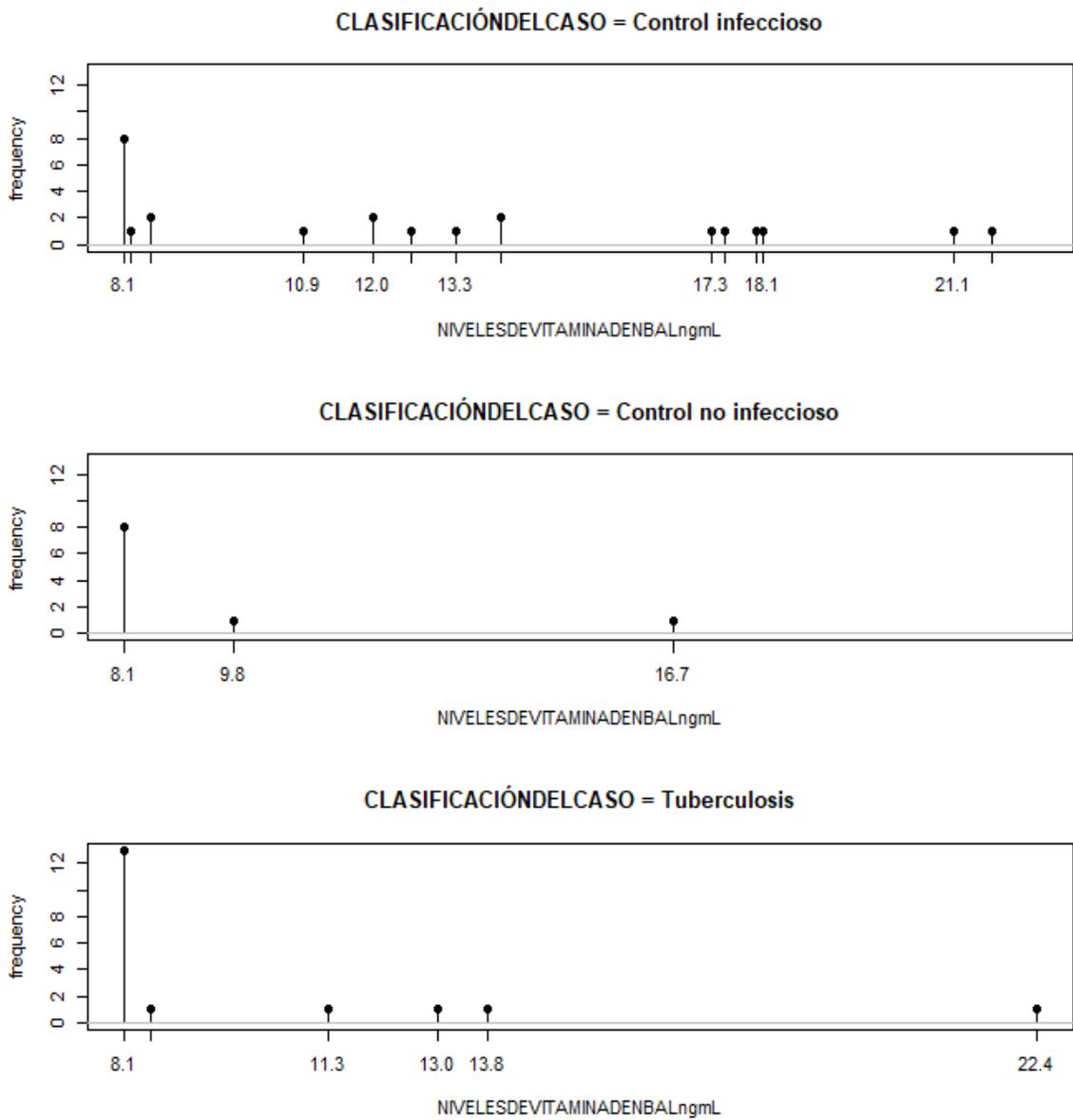


Tabla 7. Perfil antropométrico y de calcio de los grupos de pacientes.

Variable		N	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Rango	p
EDAD	Control infeccioso	24	52,2	58,0	19,1	16,0	82,0	66,0	0,248
	Control no infeccioso	10	57,4	62,0	15,4	33,0	81,0	48,0	
	Tuberculosis	18	45,7	50,0	17,9	17,0	73,0	56,0	
PESO (KG)	Control infeccioso	24	61,3	57,5	16,8	31,0	98,0	67,0	0,835
	Control no infeccioso	10	61,3	62,0	11,0	45,0	86,0	41,0	
	Tuberculosis	18	62,4	60,0	16,9	36,0	110,0	74,0	
TALLA (CM)	Control infeccioso	24	161,3	161,5	14,1	115,0	176,0	61,0	0,452
	Control no infeccioso	10	164,4	163,5	7,4	152,0	177,0	25,0	
	Tuberculosis	18	166,7	167,5	9,1	145,0	180,0	35,0	
IMC	Control infeccioso	24	23,4	23,8	4,9	16,3	38,2	21,9	0,629
	Control no infeccioso	10	22,7	22,2	3,5	17,5	30,4	12,9	
	Tuberculosis	18	22,2	21,3	5,1	14,0	37,0	23,0	
NIVELES DE CALCIO SERICO	Control infeccioso	24	8,3	8,1	0,6	7,1	9,3	2,2	0,191
	Control no infeccioso	10	8,6	8,7	0,8	7,4	10,0	2,7	
	Tuberculosis	18	8,6	8,7	0,7	7,1	10,2	3,1	
NIVELES DE CALCIO IONICO	Control infeccioso	24	1,0	1,0	0,1	,8	1,2	0,4	0,534
	Control no infeccioso	10	1,0	1,0	0,1	,9	1,2	0,3	
	Tuberculosis	18	1,0	1,0	0,1	,9	1,2	0,3	
NIVEL DE ALBUMINA	Control infeccioso	24	2,7	2,5	0,9	1,3	4,6	3,3	0,428
	Control no infeccioso	10	3,1	3,3	0,8	1,3	4,0	2,7	
	Tuberculosis	18	2,9	2,9	0,8	1,1	4,0	2,9	
CALCIO CORREGIDO A ALBUMINA	Control infeccioso	24	9,3	9,4	0,8	7,0	10,6	3,6	0,266
	Control no infeccioso	10	9,4	9,6	0,6	7,8	10,0	2,2	
	Tuberculosis	18	9,6	9,6	0,8	8,2	10,8	2,6	

9. DISCUSIÓN

Presentamos los resultados clínicos, paraclínicos y de niveles de vitamina D medidos en lavado broncoalveolar y a nivel séricos de un estudio de dos etapas (una retrospectiva y otra prospectiva) de pacientes con tuberculosis pulmonar confirmada y sus controles tanto infecciosos como infecciosos.

De las características de la población vale la pena mencionar que si bien no se encontró alta prevalencia de condiciones o factores de riesgo de esta enfermedad (infección por VIH, diabetes, trasplante, enfermedad renal crónica), dichas características fueron similares en los 3 grupos finales de comparación teniendo poblaciones homogéneas para realizar los diferentes análisis.

Hace varios años hemos reconocido y de una manera en incremento los notables papeles de la vitamina D que van más allá del metabolismo del calcio. Dentro de estos son importantes sus propiedades antiinflamatorias, pero hay datos que muestran un papel significativo en enfermedades tan diversas como la diabetes, las enfermedades autoinmunes y las enfermedades cardiovasculares (Theodoratou, Tzoulaki, Zgaga, & Ioannidis, 2014).

Históricamente tanto la tuberculosis como otras enfermedades infecciosas eran tratadas con aceites de hígado de bacalao que tenían propiedades inmunomoduladoras y con la exposición solar desconociendo en la era pre-antibióticos la razón; ambas fuentes conocidas ricas de vitamina D (Heemskerk et al., 2015). Múltiples estudios posteriores mostraron que los pacientes con tuberculosis pulmonar de manera más frecuente tienen niveles séricos más bajos comparado con controles sanos ajustado a diferentes factores y además esto se comporta como un factor de riesgo o de susceptibilidad para dicha infección (Nnoaham & Clarke, 2008).

A la fecha no se ha estandarizado ni la técnica ideal ni los niveles localmente secretados de vitamina D a pulmonar.

Los primeros estudios realizados al respecto fueron planteados por Cadranel et al. (Cadranel et al., 1990); aquí se realizó la medición de células que eran capaces de producir el metabolito activo de la vitamina D tanto en aquellas obtenidas por medio de lavado broncoalveolar como en las de sangre periférica de pacientes con tuberculosis y en controles; pudiendo documentar por primera vez la producción

extra-renal de dicha sustancia. Sin embargo, no se estableció si estos niveles estaban relacionados con el estado sérico del paciente.

La primera parte de nuestra investigación utilizando las muestras almacenadas (de lavado broncoalveolar) de la prueba previa ya mencionada demostró que los pacientes con tuberculosis tenían en un porcentaje menor, niveles detectables de la molécula (18% vs 57% controles no infecciosos) medidos por medio de la técnica ELFA (Ensayo de fluorescencia ligado a enzima). En los pacientes en los cuales se detectaron niveles en BAL, éstos fueron inferiores en el grupo tuberculosis al compararlo con sus controles infecciosos y no infecciosos (8.55 ng/mL VS 10.55 mg/mL VS 13.57 mg/mL) lo que coincide con un estudio publicado de manera reciente con una metodología muy similar sin embargo destacando el hecho que la técnica utilizada allí fue ELISA (no ELFA) y la población correspondía en su gran mayoría a pacientes con infección por VIH(Sinha, Gupta, Mandal, Das, & Pandey, 2018). De mencionar 1/3 de las personas del grupo tuberculosis presentaban infección por VIH, factor de riesgo ampliamente conocido de susceptibilidad para esta enfermedad(Lonnroth et al., 2010), que no se presentó en esta proporción en la segunda fase del estudio.

En la segunda fase del trabajo (prospectiva) encontramos con una diferencia estadísticamente significativa que los pacientes con tuberculosis pulmonar tenían niveles séricos más bajos comparado con los controles infecciosos y no infecciosos, encontrándose el total de la población en estado de insuficiencia (22,4 ng/mL VS 33,0 ng/ mL VS 33,2 mg/dL) datos que concuerdan con lo reportando en la literatura(Nnoaham & Clarke, 2008; Sinha et al., 2018). Esto fue independiente del nivel de calcio sérico, pues en los 3 grupos no se halló en este parámetro una diferencia significativa y que explicara dicha anomalía.

Al observar en comportamiento de los niveles detectados en el lavado broncoalveolar en los 3 grupos del estudio, se aprecia nuevamente con una diferencia estadísticamente significativa que los pacientes con tuberculosis pulmonar tiene unos niveles más bajos respecto a sus grupos de comparación en especial con controles infecciosos (9,7 ng/mL VS 12.2 mg/dL); estos datos coinciden nuevamente con lo encontrado en un hospital de tercer nivel al norte de la India, trabajo publicado durante el desarrollo del presente trabajo (Sinha et al., 2018). Es llamativo el hallazgo a nivel del lavado broncoalveolar del grupo considerado controles no infecciosos, pues se encontraban en niveles cercanos al los de pacientes con documentación de tuberculosis y son datos que contrastan con la primera fase del estudio y con lo reportado en el estudio de Sinha y colaboradores.

A tener en cuenta como posibles explicaciones las siguientes: en ningún momento se podría considerar esta población “sana” pues sus indicaciones de broncoscopia fueron por sospecha de reactivación de tuberculosis, tumores y trauma condiciones ultimas en donde no se ha valorado los niveles del compuesto a este nivel. Lo segundo es que comparado con la fase retrospectiva fue un número relativamente pequeño de pacientes comparado con los demás grupos de pacientes en la comparación. Por último, no se realizó un análisis subgrupo para tratar de estipular niveles diferenciales teniendo en cuenta la indicación de la broncoscopia.

La correlación entre los niveles séricos y de los encontrados en el lavado broncoalveolar de los grupos de estudio fue significativa.

A la fecha no hay publicados estudios que intenten valorar o correlacionar los niveles de vitamina D locales con diferentes citoquinas; tampoco la medición de catelicidina local (pulmonar) y su posible asociación con los niveles en BAL de vitamina D, destacando que dicho péptido media la acción antifimica de ésta(Aranow, 2011). Varios estudios han analizado el comportamiento de la catelicidina sérica en relación con el estado de vitamina D en pacientes con tuberculosis, sin poder mostrar existencia de esta (Yamshchikov et al., 2010) y por lo general con niveles en plasma elevados(Majewski, Agier, Kozłowska, & Brzezinska-Błaszczuk, 2018).

Los hallazgos de nuestra investigación son muy interesantes, recalcando el hecho de la poca información de la valoración de producción local de estos pépticos de importancia mayor en cuanto a una enfermedad de importancia en salud pública como lo es la tuberculosis.

Desafortunadamente las pruebas clínicas de suplementación con la misma han sido contradictorias seguramente de la mano con la heterogeneidad de las dosis y el tipo de suplementación de vitamina D utilizadas (Sinclair et al., 2011). Lo que si es claro es que los pacientes que la reciben junto con el tratamiento antituberculoso tienen una resolución acelerada de la respuesta inflamatoria (A. K. Coussens et al., 2012), con recuperación clínico-radiología rápida (Salahuddin et al., 2013) e incluso una respuesta microbiológica más temprana(tiempo más cortos en que los cultivos y las baciloscopias sean negativas)(Afzal, Rathore, Butt, & Randhawa, 2018).

Esta es la razón por la cual algunos autores plantean la necesidad de dar dicho tratamiento de manera concomitante(Wu et al., 2018).

Encontramos una mortalidad aproximada del 20% para nuestra población mayor en los controles no infecciosos, seguido por los pacientes clasificados como tuberculosis; lo anterior posiblemente explicado porque la gran mayoría de la población correspondía a pacientes hospitalizados, algunos en la unidad de cuidado intensivo, denotando su condición crítica basal.

De las fortalezas del trabajo vale la pena mencionar:

- Las dos fases del estudio (retrospectivo y prospectivo) permitieron confirmar en nuestra población hallazgos reportados en la literatura al respecto del comportamiento de la vitamina D a nivel sérico en diferentes escenarios patológicos y que no se relacionan con el estado o metabolismo del calcio.
- La detección de los niveles basales del compuesto en lavado bronquioalveolar para nuestra población, por medio de una técnica no descrita previamente.
- Los diferentes grupos de comparación que permitieron encontrar los hallazgos ya descritos.

Dentro de las limitaciones del presente trabajo hay que mencionar:

- El número de pacientes y controles es bajo, sin embargo, esto es propio a la naturaleza del diseño (pacientes que se sometían a fibrobroncoscopia).
- Hay un importante número de pacientes que fueron clasificados como tuberculosis de manera clínica o por imágenes, explicado por la no disponibilidad amplia en nuestro método de otro tipo de pruebas en especial las moleculares que pudieran mejorar la oportunidad diagnóstica de los mismos.
- La prueba utilizada para las mediciones de vitamina D tiene un límite inferior de detección (8.1 ng/mL) que se pudiera superar con otras técnicas empleadas en los ensayos mencionados (ELISA) mejorando la capacidad de detección en otros sitios diferentes a muestras séricas. Destacamos el hecho que no se tienen niveles de referencia ni técnica estándar de medición de vitamina D en lavado bronquial, pero por lo que se reporta y concuerda con los datos de nuestro trabajo es la presencia basal normal de niveles en esta localización.

10. CONCLUSIONES

Durante los últimos años y con evidencia de investigación clínica y básica hemos podido constatar múltiples papeles de la vitamina D fuera del homeostasis del calcio. De estos se destaca el de inmunoregulación, situación que se ha asociado con predisposición a múltiples patologías.

De interés sustancial es su rol ya bien descrito en la susceptibilidad y riesgo para sufrir tuberculosis pulmonar, estando la mayoría de los pacientes en estados de insuficiencia o deficiencia.

Nuestros hallazgos están en concordancia con lo descrito recientemente que, a nivel local en el pulmón, la vitamina D se asocia con el estado sérico del paciente; dicho de otra manera, el estado sérico influye directamente en los niveles periféricos de este compuesto.

Aún queda por esclarecer si esta asociación, influye en la inmunidad local del paciente en especial en la producción de moléculas que tienen un papel importante en la patogénesis de la infección y que son totalmente vitamina D-dependientes; esto reforzando el concepto de la utilización como co-tratamiento en este grupo de pacientes.

11. RECOMENDACIONES

- Debe continuarse la línea de investigación en vitamina D y tuberculosis con el objetivo de aumentar el número de pacientes del trabajo, en especial en los controles no infecciosos para tratar de establecer niveles basales de nuestra población y hacer los datos extrapolables.
- Diseñar una fase de seguimiento clínico para ver la evolución y respuesta por el número de pacientes diagnosticados de manera clínica y con imágenes
- Realizar medición de citoquinas anti-tuberculosas y catelicidina en los pacientes de los 3 grupos para determinar las alteraciones de la vitamina D, tienen un papel mayor en la susceptibilidad a esta infección.
- Los datos del presente trabajo sugieren que debe considerarse la medición de los niveles de vitamina D tanto en suero, como en pacientes que sean sometidos a broncoscopia diagnóstica por sospecha de tuberculosis pulmonar con el objetivo de ayuda diagnóstica y para tener en cuenta en el planteamiento terapéutico de los pacientes con tuberculosis activa.
- Considerar el tratamiento o suplementación con vitamina D en los pacientes con tuberculosis que se constata estados de deficiencia e insuficiencia pues los datos de la evidencia actual así lo soportan.

BIBLIOGRAFIA

- Afzal, A., Rathore, R., Butt, N. F., & Randhawa, F. A. (2018). Efficacy of Vitamin D supplementation in achieving an early Sputum Conversion in Smear positive Pulmonary Tuberculosis. *Pak J Med Sci*, 34(4), 849-854. doi:10.12669/pjms.344.14397
- Alland, D., Kalkut, G. E., Moss, A. R., McAdam, R. A., Hahn, J. A., Bosworth, W., . . . Bloom, B. R. (1994). Transmission of tuberculosis in New York City. An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiologic methods. *N Engl J Med*, 330(24), 1710-1716. doi:10.1056/nejm199406163302403
- Anand, P. K., & Kaul, D. (2005). Downregulation of TACO gene transcription restricts mycobacterial entry/survival within human macrophages. *FEMS Microbiol Lett*, 250(1), 137-144. doi:10.1016/j.femsle.2005.06.056
- Aranow, C. (2011). Vitamin D and the immune system. *J Investig Med*, 59(6), 881-886. doi:10.2310/JIM.0b013e31821b8755
- Arnedo-Pena, A., Juan-Cerdan, J. V., Romeu-Garcia, A., Garcia-Ferrer, D., Holguin-Gomez, R., Iborra-Millet, J., . . . Bartual, V. R. (2011). Latent tuberculosis infection, tuberculin skin test and vitamin D status in contacts of tuberculosis patients: a cross-sectional and case-control study. *BMC Infect Dis*, 11, 349. doi:10.1186/1471-2334-11-349
- Bhalla, A. K., Amento, E. P., Serog, B., & Glimcher, L. H. (1984). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits antigen-induced T cell activation. *J Immunol*, 133(4), 1748-1754.
- Boonstra, A., Barrat, F. J., Crain, C., Heath, V. L., Savelkoul, H. F., & O'Garra, A. (2001). 1alpha,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol*, 167(9), 4974-4980.
- Borella, E., Neshet, G., Israeli, E., & Shoenfeld, Y. (2014). Vitamin D: a new anti-infective agent? *Ann N Y Acad Sci*, 1317, 76-83. doi:10.1111/nyas.12321
- Bruns, H., & Stenger, S. (2014). New insights into the interaction of Mycobacterium tuberculosis and human macrophages. *Future Microbiol*, 9(3), 327-341. doi:10.2217/fmb.13.164
- Cadranel, J., Garabedian, M., Milleron, B., Guillozo, H., Akoun, G., & Hance, A. J. (1990). 1,25(OH)2D2 production by T lymphocytes and alveolar macrophages recovered by lavage from normocalcemic patients with tuberculosis. *J Clin Invest*, 85(5), 1588-1593. doi:10.1172/jci114609

- Cadranel, J., Hance, A. J., Milleron, B., Paillard, F., Akoun, G. M., & Garabedian, M. (1988). Vitamin D metabolism in tuberculosis. Production of 1,25(OH)₂D₃ by cells recovered by bronchoalveolar lavage and the role of this metabolite in calcium homeostasis. *Am Rev Respir Dis*, 138(4), 984-989. doi:10.1164/ajrccm/138.4.984
- Campbell, G. R., & Spector, S. A. (2012). Vitamin D inhibits human immunodeficiency virus type 1 and Mycobacterium tuberculosis infection in macrophages through the induction of autophagy. *PLoS Pathog*, 8(5), e1002689. doi:10.1371/journal.ppat.1002689
- Cantorna, M. T., Snyder, L., Lin, Y. D., & Yang, L. (2015). Vitamin D and 1,25(OH)₂D₃ regulation of T cells. *Nutrients*, 7(4), 3011-3021. doi:10.3390/nu7043011
- Capuano, S. V., 3rd, Croix, D. A., Pawar, S., Zinovik, A., Myers, A., Lin, P. L., . . . Flynn, J. L. (2003). Experimental Mycobacterium tuberculosis infection of cynomolgus macaques closely resembles the various manifestations of human M. tuberculosis infection. *Infect Immun*, 71(10), 5831-5844.
- Cegielski, J. P., & McMurray, D. N. (2004). The relationship between malnutrition and tuberculosis: evidence from studies in humans and experimental animals. *Int J Tuberc Lung Dis*, 8(3), 286-298.
- Comas, I., Coscolla, M., Luo, T., Borrell, S., Holt, K. E., Kato-Maeda, M., . . . Gagneux, S. (2013). Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of Mycobacterium tuberculosis with modern humans. *Nat Genet*, 45(10), 1176-1182. doi:10.1038/ng.2744
- Coussens, A., Timms, P. M., Boucher, B. J., Venton, T. R., Ashcroft, A. T., Skolimowska, K. H., . . . Martineau, A. R. (2009). 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits matrix metalloproteinases induced by Mycobacterium tuberculosis infection. *Immunology*, 127(4), 539-548. doi:10.1111/j.1365-2567.2008.03024.x
- Coussens, A. K., Wilkinson, R. J., Hanifa, Y., Nikolayevskyy, V., Elkington, P. T., Islam, K., . . . Martineau, A. R. (2012). Vitamin D accelerates resolution of inflammatory responses during tuberculosis treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(38), 15449-15454. doi:10.1073/pnas.1200072109
- Davies, P. D. (1985). A possible link between vitamin D deficiency and impaired host defence to Mycobacterium tuberculosis. *Tubercle*, 66(4), 301-306.
- DeLuca, H. F. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 80(6 Suppl), 1689s-1696s.

Dheda, K., Barry, C. E., 3rd, & Maartens, G. (2016). Tuberculosis. *Lancet*, 387(10024), 1211-1226. doi:10.1016/s0140-6736(15)00151-8

Dye, C., Glaziou, P., Floyd, K., & Raviglione, M. (2013). Prospects for tuberculosis elimination. *Annu Rev Public Health*, 34, 271-286. doi:10.1146/annurev-publhealth-031912-114431

Ganmaa, D., Giovannucci, E., Bloom, B. R., Fawzi, W., Burr, W., Batbaatar, D., . . . Willett, W. C. (2012). Vitamin D, tuberculin skin test conversion, and latent tuberculosis in Mongolian school-age children: a randomized, double-blind, placebo-controlled feasibility trial. *Am J Clin Nutr*, 96(2), 391-396. doi:10.3945/ajcn.112.034967

Gombart, A. F. (2009). The vitamin D-antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. *Future Microbiol*, 4(9), 1151-1165. doi:10.2217/fmb.09.87

Gombart, A. F., Borregaard, N., & Koeffler, H. P. (2005). Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Faseb j*, 19(9), 1067-1077. doi:10.1096/fj.04-3284com

Grad, R. (2004). Cod and the consumptive: a brief history of cod-liver oil in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Pharm Hist*, 46(3), 106-120.

Grant, W. B., & Holick, M. F. (2005). Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev*, 10(2), 94-111.

Grobler, L., Nagpal, S., Sudarsanam, T. D., & Sinclair, D. (2016). Nutritional supplements for people being treated for active tuberculosis. *Cochrane Database Syst Rev*(6), Cd006086. doi:10.1002/14651858.CD006086.pub4

Heemskerk, D., Caws, M., Marais, B., & Farrar, J. (2015). Wellcome Trust-Funded Monographs and Book Chapters *Tuberculosis in Adults and Children*. London: Springer

(c) The Author(s) 2015. The book is published with open access at SpringerLink.com.

Hewison, M. (2012). Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheum Dis Clin North Am*, 38(1), 125-139. doi:10.1016/j.rdc.2012.03.012

Hong, J. Y., Kim, S. Y., Chung, K. S., Kim, E. Y., Jung, J. Y., Park, M. S., . . . Kang, Y. A. (2014). Association between vitamin D deficiency and tuberculosis in a Korean population. *Int J Tuberc Lung Dis*, 18(1), 73-78. doi:10.5588/ijtld.13.0536

Huaman, M. A., Sterling, T. R., Shepherd, B. E., & Fiske, C. T. (2014). 25-Hydroxyvitamin D levels after recovery from tuberculosis: insights into pathogenesis. *Tuberculosis (Edinb)*, *94*(1), 51-54. doi:10.1016/j.tube.2013.10.009

Kliwer, S. A., Umesono, K., Mangelsdorf, D. J., & Evans, R. M. (1992). Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D3 signalling. *Nature*, *355*(6359), 446-449. doi:10.1038/355446a0

Kota, S. K., Jammula, S., Kota, S. K., Tripathy, P. R., Panda, S., & Modi, K. D. (2011). Effect of vitamin D supplementation in type 2 diabetes patients with pulmonary tuberculosis. *Diabetes Metab Syndr*, *5*(2), 85-89. doi:10.1016/j.dsx.2012.02.021

Lawn, S. D., Badri, M., & Wood, R. (2005). Tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART: long term incidence and risk factors in a South African cohort. *Aids*, *19*(18), 2109-2116.

Li, W., Zhang, R., Zhang, K., Song, L., Hong, P. H., Zhang, Y., . . . Li, J. (2012). Reduced vitamin D levels are associated with autoimmune response in tuberculosis patients. *Ann Rheum Dis*, *71*(5), 790. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201127

Lin, P. L., Ford, C. B., Coleman, M. T., Myers, A. J., Gawande, R., Ioerger, T., . . . Flynn, J. L. (2014). Sterilization of granulomas is common in active and latent tuberculosis despite within-host variability in bacterial killing. *Nat Med*, *20*(1), 75-79. doi:10.1038/nm.3412

Lin, P. L., Myers, A., Smith, L., Bigbee, C., Bigbee, M., Fuhrman, C., . . . Flynn, J. L. (2010). Tumor necrosis factor neutralization results in disseminated disease in acute and latent Mycobacterium tuberculosis infection with normal granuloma structure in a cynomolgus macaque model. *Arthritis Rheum*, *62*(2), 340-350. doi:10.1002/art.27271

Liu, P. T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B. H., Krutzik, S. R., . . . Modlin, R. L. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, *311*(5768), 1770-1773. doi:10.1126/science.1123933

Lodha, R., Mukherjee, A., Singh, V., Singh, S., Friis, H., Faurholt-Jepsen, D., . . . Grewal, H. M. (2014). Effect of micronutrient supplementation on treatment outcomes in children with intrathoracic tuberculosis: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, *100*(5), 1287-1297. doi:10.3945/ajcn.113.082255

Lonnroth, K., Castro, K. G., Chakaya, J. M., Chauhan, L. S., Floyd, K., Glaziou, P., & Raviglione, M. C. (2010). Tuberculosis control and elimination 2010-50: cure, care, and social development. *Lancet*, *375*(9728), 1814-1829. doi:10.1016/s0140-6736(10)60483-7

Majewski, K., Agier, J., Kozłowska, E., & Brzezinska-Błaszczuk, E. (2018). Status of cathelicidin IL-37, cytokine TNF, and vitamin D in patients with pulmonary tuberculosis. *J Biol Regul Homeost Agents*, 32(2), 321-325.

Malik, Z. A., Denning, G. M., & Kusner, D. J. (2000). Inhibition of Ca(2+) signaling by *Mycobacterium tuberculosis* is associated with reduced phagosome-lysosome fusion and increased survival within human macrophages. *J Exp Med*, 191(2), 287-302.

Martineau, A. R. (2012). Old wine in new bottles: vitamin D in the treatment and prevention of tuberculosis. *Proc Nutr Soc*, 71(1), 84-89. doi:10.1017/s0029665111003326

Martineau, A. R., Timms, P. M., Bothamley, G. H., Hanifa, Y., Islam, K., Claxton, A. P., . . . Griffiths, C. J. (2011). High-dose vitamin D(3) during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet*, 377(9761), 242-250. doi:10.1016/s0140-6736(10)61889-2

Melsew, Y. A., Doan, T. N., Gambhir, M., Cheng, A. C., McBryde, E., & Trauer, J. M. (2018). Risk factors for infectiousness of patients with tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect*, 1-9. doi:10.1017/s0950268817003041

Nnoaham, K. E., & Clarke, A. (2008). Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*, 37(1), 113-119. doi:10.1093/ije/dym247

Nursyam, E. W., Amin, Z., & Rumende, C. M. (2006). The effect of vitamin D as supplementary treatment in patients with moderately advanced pulmonary tuberculous lesion. *Acta Med Indones*, 38(1), 3-5.

Palmer, M. T., Lee, Y. K., Maynard, C. L., Oliver, J. R., Bikle, D. D., Jetten, A. M., & Weaver, C. T. (2011). Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem*, 286(2), 997-1004. doi:10.1074/jbc.M110.163790

Penna, G., & Adorini, L. (2000). 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol*, 164(5), 2405-2411.

Provvedini, D. M., Tsoukas, C. D., Deftos, L. J., & Manolagas, S. C. (1983). 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science*, 221(4616), 1181-1183.

Ralph, A. P., Waramori, G., Pontororing, G. J., Kenangalem, E., Wiguna, A., Tjitra, E., . . . Anstey, N. M. (2013). L-arginine and vitamin D adjunctive therapies in

pulmonary tuberculosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *PLoS One*, 8(8), e70032. doi:10.1371/journal.pone.0070032

Ramakrishnan, L. (2012). Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. *Nat Rev Immunol*, 12(5), 352-366. doi:10.1038/nri3211

Rigby, W. F., Stacy, T., & Fanger, M. W. (1984). Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J Clin Invest*, 74(4), 1451-1455. doi:10.1172/jci111557

Robertson, B. D., Altmann, D., Barry, C., Bishai, B., Cole, S., Dick, T., . . . Young, D. (2012). Detection and treatment of subclinical tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 92(6), 447-452. doi:10.1016/j.tube.2012.06.004

Rockett, K. A., Brookes, R., Udalova, I., Vidal, V., Hill, A. V., & Kwiatkowski, D. (1998). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a human macrophage-like cell line. *Infect Immun*, 66(11), 5314-5321.

Roelandts, R. (2002). The history of phototherapy: something new under the sun? *J Am Acad Dermatol*, 46(6), 926-930.

Ross, A. C., Manson, J. E., Abrams, S. A., Aloia, J. F., Brannon, P. M., Clinton, S. K., . . . Shapses, S. A. (2011). The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(1), 53-58. doi:10.1210/jc.2010-2704

Salahuddin, N., Ali, F., Hasan, Z., Rao, N., Aqeel, M., & Mahmood, F. (2013). 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*, 13, 22. doi:10.1186/1471-2334-13-22

Selvaraj, P. (2011). Vitamin D, vitamin D receptor, and cathelicidin in the treatment of tuberculosis. *Vitam Horm*, 86, 307-325. doi:10.1016/b978-0-12-386960-9.00013-7

Sinclair, D., Abba, K., Grobler, L., & Sudarsanam, T. D. (2011). Nutritional supplements for people being treated for active tuberculosis. *Cochrane Database Syst Rev*(11), Cd006086. doi:10.1002/14651858.CD006086.pub3

Sinha, S., Gupta, K., Mandal, D., Das, B. K., & Pandey, R. M. (2018). Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid 25(OH)Vitamin D3 Levels in HIV-1 and Tuberculosis: A Cross-Sectional Study from a Tertiary Care Center in North India. *Curr HIV Res*, 16(2), 167-173. doi:10.2174/1570162x16666180528112924

- Sloan, D. J., Mwandumba, H. C., Kamdolozi, M., Shani, D., Chisale, B., Dutton, J., . . . Davies, G. R. (2015). Vitamin D deficiency in Malawian adults with pulmonary tuberculosis: risk factors and treatment outcomes. *Int J Tuberc Lung Dis*, *19*(8), 904-911. doi:10.5588/ijtld.15.0071
- Small, P. M., Hopewell, P. C., Singh, S. P., Paz, A., Parsonnet, J., Ruston, D. C., . . . Schoolnik, G. K. (1994). The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods. *N Engl J Med*, *330*(24), 1703-1709. doi:10.1056/nejm199406163302402
- Srinivasan, A., Syal, K., Banerjee, D., Hota, D., Gupta, D., Kaul, D., & Chakrabarti, A. (2013). Low plasma levels of cholecalciferol and 13-cis-retinoic acid in tuberculosis: implications in host-based chemotherapy. *Nutrition*, *29*(10), 1245-1251. doi:10.1016/j.nut.2013.03.018
- Syal, K., Chakraborty, S., Bhattacharyya, R., & Banerjee, D. (2015). Combined inhalation and oral supplementation of Vitamin A and Vitamin D: a possible prevention and therapy for tuberculosis. *Med Hypotheses*, *84*(3), 199-203. doi:10.1016/j.mehy.2014.12.022
- Theodoratou, E., Tzoulaki, I., Zgaga, L., & Ioannidis, J. P. (2014). Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Bmj*, *348*, g2035. doi:10.1136/bmj.g2035
- Tiemersma, E. W., van der Werf, M. J., Borgdorff, M. W., Williams, B. G., & Nagelkerke, N. J. (2011). Natural history of tuberculosis: duration and fatality of untreated pulmonary tuberculosis in HIV negative patients: a systematic review. *PLoS One*, *6*(4), e17601. doi:10.1371/journal.pone.0017601
- Trang, H. M., Cole, D. E., Rubin, L. A., Pierratos, A., Siu, S., & Vieth, R. (1998). Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr*, *68*(4), 854-858.
- Turnbull, E. R., & Drobniowski, F. (2015). Vitamin D supplementation: a comprehensive review on supplementation for tuberculosis prophylaxis. *Expert Rev Respir Med*, *9*(3), 269-275. doi:10.1586/17476348.2015.1042458
- Verway, M., Bouttier, M., Wang, T. T., Carrier, M., Calderon, M., An, B. S., . . . White, J. H. (2013). Vitamin D induces interleukin-1beta expression: paracrine macrophage epithelial signaling controls M. tuberculosis infection. *PLoS Pathog*, *9*(6), e1003407. doi:10.1371/journal.ppat.1003407

Vynnycky, E., & Fine, P. E. (1997). The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. *Epidemiol Infect*, 119(2), 183-201.

Wang, T. T., Nestel, F. P., Bourdeau, V., Nagai, Y., Wang, Q., Liao, J., . . . White, J. H. (2004). Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*, 173(5), 2909-2912.

Wu, H. X., Xiong, X. F., Zhu, M., Wei, J., Zhuo, K. Q., & Cheng, D. Y. (2018). Effects of vitamin D supplementation on the outcomes of patients with pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulm Med*, 18(1), 108. doi:10.1186/s12890-018-0677-6

Yamshchikov, A. V., Kurbatova, E. V., Kumari, M., Blumberg, H. M., Ziegler, T. R., Ray, S. M., & Tangpricha, V. (2010). Vitamin D status and antimicrobial peptide cathelicidin (LL-37) concentrations in patients with active pulmonary tuberculosis. *Am J Clin Nutr*, 92(3), 603-611. doi:10.3945/ajcn.2010.29411

Zeng, J., Wu, G., Yang, W., Gu, X., Liang, W., Yao, Y., & Song, Y. (2015). A serum vitamin D level <25nmol/l pose high tuberculosis risk: a meta-analysis. *PLoS One*, 10(5), e0126014. doi:10.1371/journal.pone.0126014

Zhan, Y., & Jiang, L. (2015). Status of vitamin D, antimicrobial peptide cathelicidin and T helper-associated cytokines in patients with diabetes mellitus and pulmonary tuberculosis. *Exp Ther Med*, 9(1), 11-16. doi:10.3892/etm.2014.2042

Zumla, A., George, A., Sharma, V., Herbert, R. H., Oxley, A., & Oliver, M. (2015). The WHO 2014 global tuberculosis report--further to go. *Lancet Glob Health*, 3(1), e10-12. doi:10.1016/s2214-109x(14)70361-4

ANEXOS

Anexo A. Consentimiento informado.

	FORMATO	
		FECHA DE EMISION SEPTIEMBRE DEL 2017
	CONSENTIMIENTO INFORMADO PAR PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION MEDICA	VERSIÓN: 01
		CÓDIGO: GDI-I-F-003-001B
		PAGINA: 1 DE 2

“NIVELES DE VITAMINA D SERICOS Y EN LAVADO BRONCOALVEOLAR EN PACIENTES CON SOSPECHA DE TUBERCULOSIS PULMONAR

Investigador principal: CRISTHIAN FELIPE RAMIREZ RAMOS; JHON FREDY SALAMANCA MONTILLA, MEDICINA INTERNA

Sede donde se realiza el estudio: HOSPITAL UNIVERSITARIO HERNANDO MONCALEANO PERDOMO NEIVA.

Nombre del Paciente: _____

A usted se le está invitando a participar en el estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregara una copia firmada y fechada.

1. Objetivo del estudio: el presente estudio tiene como objetivo medir los niveles de la partícula llamada vitamina D a nivel de sangre periférica y de la muestra de lavado broncoalveolar, así mismo medir las Citoquinas (moléculas del sistema de defensa) en dicho líquido para evaluar- comparar la posible relación que tengan las mismas.

2. Justificación del estudio Con este estudio y teniendo en cuenta datos previos podemos saber cuál es la relación en las sustancias mencionadas y si sus alteraciones pueden impactar en el riesgo de tuberculosis y en la posible progresión de los pacientes que presentan la enfermedad.

3. Beneficios del estudio con los resultados se podrán soportar tratamientos que ayuden a los medicamentos antituberculosos a curar de manera más eficaz y rápida esta enfermedad.

4. Procedimientos del estudio para realizar el estudio se tomará una muestra de sangre periférica (10 ml) y cuando se realice la fibrobroncoscopia (endoscopia del pulmón) se tomará la muestra restante para ser analizados de manera posterior.

5. Riesgos asociados al estudio. El presente estudio se clasifica como riesgo mínimo para el paciente según la resolución 8430 de 1993 inherente a toma de la muestra de sangre en venopunción. Los riesgos inherentes al examen de broncoscopia no aplican pues el paciente de manera explícita tiene indicación de realizar dicho examen diagnóstico y no es la intención de nuestro estudio sino la población que será evaluada.

6. Aclaraciones: Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Si tiene alguna pregunta o si desea alguna aclaración por favor comunicarse con el Dr. (a) Cristhian Felipe Ramírez Ramos al teléfono 3102022516 y al Dr. (a) Jhon Fredy Salamanca Montilla al teléfono 3204764761 Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si así lo desea, firmar el consentimiento informado que forma parte de este documento.

	FORMATO	 FECHA DE EMISION SEPTIEMBRE DEL 2017
	CONSENTIMIENTO INFORMADO PAR PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION MEDICA	VERSION: 01 CÓDIGO: GDI-I-F-003-001B PAGINA: 1 DE 2

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si así lo desea, firmar el consentimiento informado que forma parte de este documento.

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Yo, _____ c.c N° _____
de _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria por el investigador que me entrevisto. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, por lo tanto, deseo participar voluntariamente en el proyecto de investigación.

Nombres y Apellidos del Participante

Firma del Participante.
C.C N°

Nombre del Testigo

Firma Del Testigo.
C.C N°

Esta parte debe ser completada por el investigador (o su responsable)

He explicado al Sr.(a) _____ el propósito de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implican su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella (Resolución 8430 de 1993) una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del Investigador

Fecha

DESISTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ identificado con cedula de ciudadanía número _____ de la ciudad de _____ he participado voluntariamente en el estudio en mención hasta el día de hoy (día / mes / año), donde haciendo uso de mi derecho de retirarme voluntariamente en cualquier fase del desarrollo del estudio, sin que esto ocasione ningún tipo de represalia contra mí, decido a partir de este momento no participar más en esta investigación, siendo expuestos mis motivos de desistimiento a continuación:

Como constancia del desistimiento en la participación de este estudio firman a continuación:

Firma de la persona que desiste de su participación en el estudio
CC. _____

Fecha: (día / mes / año)

Firma de testigo (si aplica)
CC. _____

Fecha: (día / mes / año)

Firma de uno de los investigadores
CC. _____

Fecha: (día / mes / año)