

Artículo Original

Nivel sérico de la Beta 2- microglobulina en pacientes con tuberculosis pulmonar activa

Serice level of Beta 2-microglobulin in patients with active pulmonary tuberculosis

Picagua Araújo E^{1*}, Cabello Sarubbi A¹, Echauri Ortiz Villalba M², Caballero Mendéz E², Rolón Aguilar B², Rovira C¹.

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud – UNA, ² Cátedra de Neumología del Hospital de Clínicas- Facultad de Ciencias Médicas – UNA

RESUMEN

Introducción: La tuberculosis pulmonar es una enfermedad inflamatoria crónica del pulmón y es endémica en Paraguay. Niveles elevados de beta-2 microglobulina (β 2-m) son utilizados como marcadores de pronóstico en patologías como la leucemia linfocítica crónica, linfomas, mieloma múltiple, osteoartritis, artritis, enfermedades renales y SIDA, pero su utilidad en la tuberculosis aún necesita de evaluaciones. **Objetivo:** Evaluar si el nivel de β 2-m permitiría determinar el grado de actividad de la infección sirviendo como marcador de evolución y seguimiento terapéutico de la tuberculosis pulmonar. **Metodología:** La primera parte fue un estudio descriptivo, de muestreo consecutivo y la segunda un estudio de cohorte, prospectivo. Se determinó el nivel sérico de β 2-m por el método de ELISA en 22 pacientes con TBC pulmonar activa antes de iniciar el tratamiento y después de 6 meses. Además se determinó el nivel sérico de β 2-m en 22 individuos aparentemente sanos como controles. **Resultados:** Se observó una disminución estadísticamente significativa de los niveles séricos de β 2-m en los 22 pacientes después de los 6 meses de tratamiento con respecto a los niveles anteriores al tratamiento ($2,2 \pm 1,0$ vs $4,3 \pm 2,7$ μ g/mL, $p < 0,0001$). Sin embargo, la disminución de los valores de β 2-m en los 22 pacientes tratados no descendieron a los niveles de los 22 controles normales ($0,98 \pm 0,22$ μ g/mL, $p < 0,0000001$). En el 23 % ($n=5$) de los pacientes con TBC los niveles disminuyeron hasta llegar por debajo del punto de corte a los 6 meses después del tratamiento. **Conclusiones:** Todos los pacientes con TBC presentaron niveles aumentados de β 2-m antes del tratamiento y en todos ellos se observó una disminución después del tratamiento, aún sin llegar al valor de los controles. Un seguimiento posterior de por lo menos un año postratamiento nos permitiría determinar si el nivel de β 2-m podría ser utilizado como un marcador de la actividad de la infección e indirectamente un marcador de eficacia del tratamiento.

Palabras clave: *Mycobacterium tuberculosis*, Beta 2-microglobulina, marcador de actividad de infección

ABSTRACT

Introduction: Pulmonary tuberculosis is a chronic inflammatory disease and it is endemic in Paraguay. High levels of β 2-microglobulin are used as prognostic markers in pathologies such as chronic lymphocytic leukemia, lymphomas, multiple myeloma, osteoarthritis, kidney diseases and AIDS but its usefulness in tuberculosis (TBC) needs further evaluation. **Objectives:** To evaluate whether serum level

***Autor correspondiente:** Dra. Estela Picagua Araujo

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud – UNA. Río de la Plata y Lagerenza. Asunción – Paraguay. Tel: 595-21-422069

E-mail: epicagua@hotmail.com

of β 2-m could allow determining the activity level of the infection acting as a marker of the evolution and therapeutic follow-up of pulmonary tuberculosis. **Methodology:** The first part of this work was a descriptive study with consecutive sampling, and the second part was a prospective cohort study. The serum levels of β 2-m were determined by ELISA in 22 patients with active pulmonary TBC before starting treatment and 6 months after treatment. The serum levels were also determined in 22 apparently healthy individuals as controls. **Results:** A statistically significant decrease was observed in the serum levels of β 2-m of the 22 patients after six months of treatment when they were compared with the levels before treatment (2.2 ± 1.0 vs 4.3 ± 2.7 μ g/mL, $p < 0.0001$). However, the decreased β 2-m levels in the 22 patients did not reach the levels of the 22 normal control subjects (0.9 ± 0.2 μ g/mL, $p < 0.0000001$). In 23 % (n=5) of the TBC patients, the levels decreased below the cut-off point six months after treatment. **Conclusions:** All patients with TBC showed increased levels of β 2-m before treatment and decreased levels after treatment without reaching the control values. A follow-up of at least one year post-treatment would allow evaluating whether the serum levels of β 2-m could be used as a marker of infection activity and indirectly as a marker of treatment efficacy.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, Beta 2-microglobulin, marker of infection activity

INTRODUCCION

La tuberculosis pulmonar es una enfermedad frecuente en los países en vías de desarrollo. Afecta predominantemente a individuos con escasos recursos económicos, es decir, con problemas de desnutrición, insalubridad y hacinamiento (1).

La beta 2-microglobulina (β 2-m) es una proteína de peso molecular 12000 daltones aproximadamente, asociada con antígenos de HLA de los loci A, B, C. (2,3). Algunos resultados, en conjunción con la pérdida de la expresión del antígeno de HLA ya reportado sugieren un profundo desorden inmunológico durante el desarrollo de esta infección crónica que envuelve varias clases de proteínas de membrana de los linfocitos y probablemente provoca una interacción anormal de las células, alterando la respuesta inmune. En este sentido el complejo β 2m-HLA parece servir como un sitio de unión para los antígenos presentándolos a los linfocitos citotóxicos que luego son activados. Este mecanismo parece ser la clave en las infecciones virales y podría jugar un rol importante en la infección por micobacterias (1,3,4,5).

Recientemente la determinación de la beta 2-microglobulina (β 2-m) ha demostrado ser un instrumento útil en muchos campos de la investigación y un aumento en el nivel sérico se ha encontrado en diferentes desórdenes que presentan alguna alteración en la regulación de la respuesta inmune, en neoplasias como la leucemia linfocítica crónica, linfomas, y mieloma múltiple (6-8), en enfermedades renales (9-13), osteoartritis (2) y artritis (14).

Los niveles séricos de β 2-m están también aumentados en pacientes con SIDA (15-18) y en hombres homosexuales con persistente y generalizada linfadenopatía y aparece en forma paralela a la actividad de la enfermedad, considerándose un marcador importante para medir la evolución de la enfermedad (19-22).

El estudio de la β 2-m actuaría como un importante criterio en los protocolos clínicos y como un marcador para evaluar la eficacia del tratamiento. Algunos estudios previos realizados en México (1) demostraron que algunos pacientes, quienes fueron estudiados varias veces durante el tratamiento, cuando los mismos mostraban mejoría, el nivel sérico de esta proteína presentaban valores intermedios. Además, la medida secuencial del nivel sérico de β 2-m refleja el resultado de la terapia y tiene una directa relación con la actividad inflamatoria de la enfermedad (1,3).

El objetivo de este estudio fue evaluar si el nivel de β 2-m nos permitiría determinar el grado de actividad de la infección sirviendo como marcador de evolución y seguimiento terapéutico de la tuberculosis pulmonar.

MATERIAL Y METODO

Diseño: La primera parte fue un estudio descriptivo, de muestreo consecutivo y la segunda un estudio de cohorte, prospectivo.

Pacientes: En este estudio se reclutaron a 22 pacientes con el diagnóstico de tuberculosis pulmonar activa, de ambos sexos que presentaron baciloscopia positiva (a partir de esputo directo o lavado bronquial y sin tratamiento previo), provenientes tanto del área urbana como rural del Paraguay. El 59% (n=13) de los pacientes estuvieron internados en el Hospital Juan Max Boettner y 41% (n=9) en la Cátedra de Neumología del Hospital de Clínicas en el periodo de 1996-1997. Como controles se estudiaron a 22 individuos aparentemente sanos. A todos los pacientes e individuos aparentemente sanos les fue solicitado un consentimiento informado previo, por escrito, para su inclusión en el estudio, siguiendo los lineamientos de la Declaración de Helsinki para estudios humanos. De las historias clínicas se obtuvieron los datos demográficos, laboratoriales y radiográficos, se mantuvo la confidencialidad de toda la información proporcionada. Fueron excluidos de este estudio, pacientes con tuberculosis pulmonar activa previamente tratados, pacientes que no accedieron a participar del estudio, pacientes portadores de VIH y enfermos de SIDA, pacientes con enfermedades que alteran el nivel de β_2 -m como la leucemia linfocítica crónica (LLC), linfomas no Hodgkin, mieloma múltiple y enfermedades renales.

Tratamiento: Se utilizó el recomendado por la OMS/OPS (23), que consiste en dos meses de dosis diaria de isoniazida de 5mg/kg/día, rifampicina de 10mg/kg/día, pirazinamida de 30 mg/kg/día y etambutol de 20 mg/kg/día, seguido de isoniazida de 5 mg/kg/día y rifampicina de 10 mg/kg/día durante cuatro meses.

Prueba de ELISA

Para la determinación de los niveles de β_2 -m se extrajo sangre venosa sin anticoagulante en los pacientes y controles. El suero obtenido se mantuvo a -20°C hasta el momento de su procesamiento. El nivel de β_2 -m fue medido utilizando un kit de ELISA (Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala Sweden) siguiendo las indicaciones del fabricante. Se utilizó preferentemente muestras no diluidas, y en caso en que se requirió realizar diluciones se utilizó la solución de lavados como diluyente. Se aplicaron 25 μl de las muestras, controles y estándar en los pocillos de la placa de microtitulación. Se agregó 100 μl del anticuerpo anti- β_2 -m a cada pocillo de la placa incubándose a temperatura ambiente durante 1 hora, con agitación permanente. Después de los 3 lavados, se incubó con 200 μl de la solución de desarrollo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se agregó 100 μl de la solución stop. Se midió la absorbancia en un lector de ELISA (Anthos, Austria) a la longitud de onda de 405 nm. Se consideran normales valores inferiores a 2 $\mu\text{g/mL}$.

Análisis estadístico

Los datos fueron cargados en una planilla electrónica (Excel) y analizados mediante el paquete estadístico Epi-Info 2002. Para el análisis comparativo del nivel sérico de β_2 -m en los pacientes antes y después del tratamiento del estudio se empleó la prueba t pareada a un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

El 54,5% (n=12) de los pacientes con TBC pertenecía al sexo femenino y 45,5% (n=10) al masculino. La edad promedio fue $35,4 \pm 12,6$ años (15-61 años). El 63,2 (n=12) provenía de la zona rural y 36,8% (n=7) de la urbana. En las radiografías de los pacientes (81,0%, n=17) se observó que el grado de extensión pulmonar era muy extendido y en el 19,0% (n=4) la lesión fue moderada. El 42,9% (n=6) presentaron una PPD menor a 5 mm, y el 57,1% (n=8) entre 5-20 mm. De los 22 individuos del grupo

control, 18 (82%) fueron del sexo femenino y 4 (18%) del masculino, con una edad promedio de $32,9 \pm 6,4$ años.

En los 22 pacientes hubo una disminución estadísticamente significativa en los niveles séricos de $\beta 2$ -m después de 6 meses de tratamiento en comparación a los niveles séricos obtenidos antes del tratamiento ($4,3 \pm 2,7$ vs $2,2 \pm 1,0$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, $p < 0,0001$; prueba t pareada) (Tabla 1).

Tabla 1. Nivel sérico de $\beta 2$ -m ($\mu\text{g}/\text{m}$) en pacientes con TBC activa antes y después del tratamiento.
IICS – UNA / Cátedra de Neumología FCM – UNA
n=22

	Promedio	Desvío estándar	Rango	prueba t
Antes del tratamiento	4,3	2,7	2,3-11,1	p=0,00009; pareada
Después del tratamiento	2,2	1	0,9-5,2	
Controles	0,9	0,2	0,7-1,7	p < 0,00001

Aunque los valores de $\beta 2$ -m en los 22 pacientes estuvieron significativamente disminuidos luego del tratamiento, al ser comparados con el nivel de los controles se observó que el nivel sérico de $\beta 2$ -m de los pacientes seguía significativamente aumentado en relación al de los controles ($2,2 \pm 1,0$ vs $0,98 \pm 0,22$ $\mu\text{g}/\text{mL}$, $p < 0,00001$).

En todos los pacientes hubo una disminución en el nivel sérico de $\beta 2$ -m, oscilando entre 3,7 y 65,8% el porcentaje de disminución. Antes del tratamiento el 100% de los 22 pacientes tenía niveles de $\beta 2$ -m por encima de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Después del tratamiento 17 (77%) pacientes presentaron disminución de los niveles de $\beta 2$ -m, valores que permanecieron por encima de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$. En 5 (23%) pacientes, los niveles disminuyeron hasta a valores por debajo de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a los 6 meses después del tratamiento.

DISCUSIÓN

En este trabajo se encontró que antes del tratamiento todos los pacientes con tuberculosis pulmonar activa, sin infección con VIH, presentaron niveles séricos de $\beta 2$ -m por encima del valor considerado normal. Estos hallazgos sugieren que durante el período de inflamación pulmonar debido al *Mycobacterium tuberculosis* los niveles séricos de $\beta 2$ -m están notablemente aumentados, al igual que en otras patologías que presentan alteración en la respuesta inmune como las neoplasias (6-8) y el SIDA (15-17) y TBC (1,3).

En el estudio de Collazos y col. (24) niveles aumentados de $\beta 2$ -m se observaron en un grupo relativamente pequeño de pacientes con TBC, esto probablemente se deba a que la enfermedad no era severa, demostrada por la extensión limitada de los infiltrados radiológicos, ausencia de compromiso extra-torácico y la duración relativamente corta de los síntomas (14 días). En nuestra serie los pacientes presentaban estadios muy avanzados de la enfermedad, presentando en la radiografía grados de extensión pulmonar muy extendida en el 91%. De ahí los niveles más elevados de $\beta 2$ -m en nuestra serie.

La utilidad de este marcador en el tratamiento de la TBC activa fue evaluada anteriormente por Collazos y col. (24). Ellos encontraron niveles aumentados de la $\beta 2$ -m en un subgrupo de pacientes con TBC antes del tratamiento y en éstos los niveles séricos de la proteína bajaron a niveles normales entre 7 a 17 semanas después del inicio del tratamiento. Esta disminución se observó también en los pacientes con niveles normales al inicio. En nuestro estudio se observó una disminución estadísticamente significativa con relación a los niveles séricos antes del tratamiento. Sin embargo sólo en el 23% de los pacientes los niveles de $\beta 2$ -m disminuyeron por debajo del punto de corte, no así en el 77%, quienes probablemente necesiten un mayor tiempo de seguimiento hasta que la proteína vuelva a su nivel normal, pues en el 100% de los casos estudiados se observó disminución sin llegar a los valores normales de referencia.

CONCLUSIÓN

En nuestro estudio, durante el período de la inflamación pulmonar, y antes del tratamiento, debido al *Mycobacterium tuberculosis* los niveles séricos de β 2-m estuvieron notablemente aumentados y luego de reducida la inflamación después del tratamiento estos niveles disminuyeron. Determinaciones del nivel sérico de β 2-m revelan patrones de cambio que reflejan los resultados de la terapia y tienen una directa relación con la actividad inflamatoria de la enfermedad disminuyendo notablemente a los seis meses de tratamiento.

Aunque en este período el nivel sérico de β 2-m no llegó al valor de los controles, un seguimiento posterior nos permitiría determinar si el nivel de β 2-m podría ser utilizado como un marcador de la actividad de la infección e indirectamente un marcador de eficacia del tratamiento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo de los fondos de la Dirección de Investigación y Postgrado de la Universidad Nacional de Asunción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Terán L, Selman M, Montes R, Escalante R, Rubio H. Serum levels of beta 2-microglobulin in patients with pulmonary tuberculosis. *Med Sci Res* 1987; 613-14
2. Melikoglu MA, Yildirim K, Senel K. Relationship between radiographic grading of osteoarthritis and serum beta-2 microglobulin. *Ir J Med Sci* 2009 ; 178: 151-154
3. Terán L, Lezcano D, Camarena A, Juarez A, Rubio G, Montes R, Galvan O, Rubio H, Torres M, Sada E, Selman M. Inmunogenética en tuberculosis pulmonar. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 1992; 5:183-6
4. Filippin FB, Souza LC. Serum β 2- microglobulin values among healthy Brazilians using a DPC IMMULITE® assay. *CLINICS* 2005; 60(1): 47-50
5. Xie J, Wang J, Freeman III ME, Barlogje B, Yi Q. β 2- microglobulin as a negative regulator of the immune system: high concentration of the protein inhibit in vitro generation of functional dendritic cells. *BLOOD* 2003; 101(10): 4005-12
6. Hansen P.B, Kiildsen L, Dalhoff K, Olesen B. Cerebrospinal fluid beta2-microglobulin in adult patients with acute leukemia or lymphoma: A useful marker in early diagnosis and monitoring of CNS-involvement. *Acta Neurol Scand* 1992; 85: 224-7
7. Melillo L, Cascavilla N, Lombardi G, Carotenuto M, and Musto P. Prognostic relevance of serum beta 2- microglobulin in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1992; 6:1076-8
8. Laud Petersen B y Braendstrup O. Expression of β 2-microglobulin by human benign and malignant mesenchymal and neurogenic tumours. *Int. J. Exp. Path* 1993; 74:397-401
9. Viau C, Bernard A, and Lauwerys R. Determination of rat β 2- microglobulin in urine and in serum. I. Development of an immunoassay based on latex particles agglutination. *Journal of applied toxicology* 1986; 6(3):185-9
10. Bernard A, Ouled Amor A & Lauwerys R. Charge-dependent renal uptake of beta 2-microglobulin in conscious rats. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 415-23
11. Ikeda M, Moon CS, Zhang ZW, Iguchi H, Watanabe T, Iwami O, Imai Y, and Shimbo S. Urinary α 1-microglobulin, β 2-microglobulin, and retinol-binding protein levels in general populations in Japan with references to cadmium in urine, blood and 24-hour food duplicates. *Environmental research* 1995; 70:35-46
12. Madalena LB, Facio ML, Bresciani PD, Fraind SA, Alexandre ME, Pandolfo M, Angerosa M, Toblli JE, Pizzolato MA. Excreción de proteínas de bajo peso molecular en pacientes con proteinuria a

- cadena liviana como marcadoras de disfunción renal. *Acta Bioquím. Clin. Latinoam* 2004; 38(1):17-22
13. Herrero-Morín JD, Málaga S, Fernández N, Rey C, Diéguez MA, Solís G, Concha A, Medina Alberto. Cystatin C and beta2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. *Crit Care* 2007; 11(3):R59
 14. Tran TM, Dorris ML, Satumtira N, Richardson JA, Hammer RE, Shang J, Taurog JD. Additional human beta 2-microglobulin curbs HLA-B27 misfolding and promotes arthritis and spondylitis without colitis in male HLA-B27-transgenic rats. *Arthritis Rheum* 2006; 54(4):1317-27
 15. Lifson AR, Hessol NA, Buchbinde R, O'Malley PM, Barnhart L, Segal M, Katz MH, Holmberg SD. Serum β 2-microglobulin and prediction of progression to AIDS in HIV infection. *The Lancet* 1992; 339: 1436-40
 16. Hofmann B, Wang Y, Cumberland WG, Detels R, Bozorgmehri M and Fahey JL. Serum β 2-microglobulin level increases in HIV infection: Relation to Seroconversion, CD4 T-cell fall and prognosis. *AIDS* 1990; 4: 207-14
 17. Lucey DR, McGuire SA, Clerici M, Hall K, Benton J, Butzin CA, Ward WW, Shearer G, Boswell N, and Hendrix C.W. Comparison of spinal fluid β 2-microglobulin levels with CD4+ T cell count, in vitro T helper cell function, and spinal fluid IgG parameters in 163 neurologically normal adults infected with the human immunodeficiency Virus type 1. *The Journal of Infectious Diseases* 1991; 163: 971-5
 18. Wanchu A, Arora S, Bhatnagar A, Sud A, Bambery P, Singh S. Decline in beta-2 microglobulin levels after antinuclear therapy in tubercular patients with HIV infection. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2001; 43(4):211-5
 19. Anderson RE, Lang William, Shiboski S, Royce R, Jewel N, Winkelstein W. Use of β 2-microglobulin level and CD4 lymphocyte count to predict development of acquired immunodeficiency syndrome in persons with human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 1990; 150: 73-7
 20. Jacobson MA, Abrams DI, Volberding PA, Bacchetti P, Wilber J, Chaisson RE, Crowe S, Howard W, and Moss A. Serum β 2-microglobulin decreases in patients with AIDS or ARC treated with azidothymidine. *The Journal of Infectious Diseases* 1989; 159(6): 1029-36
 21. Osmond DH, Shiboski S, Bacchetti P, Winger EE, and Moss AR. Immune activation markers and AIDS prognosis. *AIDS* 1991; 5:505-11
 22. Bass HZ, Hardy W. D, Mitsuyasu RT, Taylor MG, Wang YX, Fischl MA, Spector SA, Richman DD, and Fahey JL. The effect of zidovudine treatment on serum neopterin and β 2-microglobulin levels in mildly symptomatic HIV type 1 seropositive individuals. *Journal of acquired immune deficiency syndromes* 1992; 5: 215-21
 23. Dermot Maher, Pierre Chaulet, Sergio Spinaci, Anthony Harries. Tratamiento de la Tuberculosis. Directrices para los Programas Nacionales. Segunda Edición 1.997. Ginebra, Suiza WHO/TB/97.220
 24. Collazos J, Martínez E, and Mayo J. Evolution of Serum, β 2-microglobulin concentrations during treatment of tuberculosis patients. *Scand J Infect Dis* 1999; 31:265-7