

101

AGAMAGLOBULINEMIA LIGADA AL X: VENTAJAS DEL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y EL TRATAMIENTO CON GAMAGLOBULINA HUMANA VENOSA

Olivares María Margarita, Montoya C.J., Salgado H.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín,

Colombia.

Introducción: la agamaglobulinemia ligada al X (ALX) es una entidad caracterizada por ausencia de linfocitos B maduros en sangre periférica y una gran incapacidad para producir anticuerpos, debida a mutaciones en el gen que codifica para una tirosina kinasa importante en la señalización intracelular. El tratamiento específico está dirigido a la terapia de reemplazo con gamaglobulina humana venosa en forma permanente.

Objetivo: evaluar los beneficios de la terapia de reemplazo en pacientes con diagnóstico de ALX, comparando entre los afectados que recibieron gamaglobulina humana venosa y aquellos que no tuvieron este tratamiento.

Diseño del estudio: retrospectivo descriptivo.

Métodos: se analizaron las historias clínicas de seis pacientes con diagnóstico confirmado de ALX detectados en los últimos cinco años en la consulta ambulatoria del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, evaluando los parámetros relacionados con la evolución clínica antes y después de instaurado el tratamiento.

Variables principales medidas: edad de inicio de las infecciones, edad al diagnóstico, tipo de tratamiento, episodios infecciosos por año, hospitalizaciones por infecciones, necesidad de tratamiento antibiótico, desarrollo pondoestatural y presencia de secuelas.

Resultados: se conformaron dos grupos de estudio: tres pacientes con ALX recibieron tratamiento de reemplazo con gamaglobulina venosa mensual en forma permanente, mientras que a igual número de afectados no se les suministró este manejo por diferentes razones (ausencia de seguridad social o negativa de las instituciones responsables). La edad de inicio de las infecciones fue muy similar en los dos grupos (12 a 15 meses de edad); sin embargo, el diagnóstico se hizo más precozmente en los tratados con gamaglobulina (promedio: 2 años) que en los no tratados (promedio: 4.3 años). Los sitios afectados fueron también semejantes en los dos grupos: tracto respiratorio superior e inferior, aparato digestivo, piel y tejidos blandos, huesos y sistema nervioso central. Luego de iniciar el manejo específico, en el grupo que recibió gamaglobulina las infecciones disminuyeron marcadamente en número y severidad, presentándose únicamente episodios ocasionales de infecciones leves del tracto respiratorio con buena respuesta al tratamiento antibiótico; no se requirieron nuevas hospitalizaciones y el desarrollo pondoestatural ha sido adecuado. En los pacientes que no recibieron gamaglobulina se siguieron presentando infecciones recurrentes de severidad variable, necesitaron con mayor frecuencia hospitalizaciones y tratamiento antibiótico, y se desarrollaron secuelas como retraso pondoestatural, acortamiento de extremidades, necrosis del pabellón auricular, infecciones virales crónicas (meningoencefalitis por enterovirus), y sepsis; estos últimos pacientes fallecieron en los 30 meses siguientes al diagnóstico.

Conclusión: la detección temprana de los pacientes con ALX y el tratamiento con gamaglobulina humana venosa permite que se modifique notablemente el curso de la enfermedad, por una disminución dramática en el número de episodios infecciosos y en la necesidad de hospitalizaciones; esto tiene unas serias implicaciones en la calidad de vida del paciente y sus familiares, así como en los costos de atención de los afectados.

102

DEFECTOS EN LA COESTIMULACIÓN Y LA GENERACIÓN DE LA MEMORIA INMUNOLÓGICA EN EL SÍNDROME DE HIPER-IgE CON INFECCIONES RECURRENTE

Montoya Carlos Julio, Patiño P.J., Franco J.L., López JA., García de O. D.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín,

Colombia.

El síndrome de hiper-IgE con Infecciones Recurrentes (SHIEIR) es una inmunodeficiencia primaria compleja que compromete múltiples órganos y sistemas, en la cual no se conocen la causa ni los mecanismos fisiopatológicos. Se han descrito múltiples alteraciones inmunológicas que podrían explicar parcialmente las susceptibilidad anormal a las infecciones, como una respuesta deficiente de memoria ante los antígenos, pero la expresión de las moléculas coestimuladoras y los marcadores de activación y memoria no han sido evaluados.

Hipótesis: en el SHIEIR existe una alteración en el desarrollo de la activación y la memoria de los linfocitos T debida a defectos en el desarrollo del diálogo recíproco mediado por la interacción de las diferentes parejas de moléculas coestimuladoras.

Objetivo: evaluar la linfoblastotransformación y la expresión de las moléculas de superficie: CD40, CD154, CD28, CD80, CD86, CD152, CD45RA y CD45RO, en las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de pacientes con SHIEIR y los respectivos controles.

Diseño del estudio: experimental. Se seleccionaron cinco pacientes con diagnóstico de SHIEIR de acuerdo con los criterios definidos por el grupo de expertos de la OMS; como controles se evaluaron en forma paralela, pareados por sexo y edad, individuos sanos sin antecedentes de enfermedades mediadas por IgE.

Métodos: se realizaron cultivos de CMSP estimuladas con un mitógeno (PHA a 5mg/ml) o antígeno (toxide tetánico 1:200). La linfoblastotransformación se evaluó por la incorporación de timidina triada, y las diferentes subpoblaciones de CMSP y la expresión de moléculas de superficie relacionadas con el estado de activación y memoria fueron analizadas por citometría de flujo incubando las células con anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos contra CD3, CD4, CD8, CD22, CD33, CD40, CD154, CD28, CD152, CD80, CD86, CD45RA y CD45RO.

Resultados: al comparar los resultados de pacientes y controles, los pacientes con SHIEIR mostraron: una deficiente respuesta proliferativa de las CMSP de luego el reto con antígenos; una baja expresión superficial de la molécula CD86 en las células presentadoras de antígenos en condiciones basales; una expresión anormalmente disminuida del CD152 en los linfocitos T CD4+ luego de la activación con mitógeno y antígeno; un aumento en la expresión del CD45RA y una reducción en la expresión de la molécula de activación y memoria CD45RO en condiciones basales y luego de las diferentes condiciones de estimulación.

Conclusiones: el análisis de la expresión de las moléculas coestimuladoras involucradas en la activación y generación de la memoria de los linfocitos T, sugiere que en el momento de la presentación antigénica existe un defecto en la interacción CD28/CD86, debido a la disminución de la expresión del CD86, y que se refleja por defectos en el cambio de la isoforma CD45RA a CD45RO y en una disminución en la expresión de CD152 en los linfocitos T. La alteración en la expresión de la molécula CD86 se correlaciona perfectamente con la deficiencia encontrada en la proliferación linfocitaria secundaria a la estimulación con los antígenos, pues se sabe que esta molécula coestimuladora es indispensable para la proliferación de los linfocitos T durante el desarrollo de la respuesta inmune específica.

103

DETECCIÓN DE INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS POR MEDIO DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA PARA LA INFECCIÓN RECURRENTE

Montoya Carlos Julio, Salgado H., Patiño P.J., López JA., Gómez RD., García de O. D.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

La infección recurrente constituye una causa importante de enfermedad, incapacidad y muerte, y puede ser la manifestación de una susceptibilidad anormal a los agentes infecciosos, como la que se encuentra en las deficiencias primarias y secundarias en la respuesta inmune contra los microorganismos.

Objetivo: caracterizar el síndrome de infección recurrente en el área metropolitana del Valle del Aburrá; detectar, a través de un protocolo de análisis clínico y de laboratorio, todos los casos de inmunodeficiencia primaria responsables de una infección recurrente anormal.

Diseño del estudio: se diseñó un programa de vigilancia epidemiológica para la infección recurrente que define los criterios de selección de los pacientes sospechosos de padecer alguna inmunodeficiencia predisponente; además, se establecieron protocolos clínicos y de laboratorio para el estudio de los casos que lo ameritaran, así como los mecanismos de remisión a un lugar de evaluación por personal especializado.

Participantes: las unidades de atención en salud del área metropolitana del Valle de Aburrá, departamento de Antioquia, y el Grupo de Inmunodeficiencias Primarias de la Universidad de Antioquia.

Intervenciones: se difundieron al personal de salud, por medio de actividades de educación continua, los conocimientos más importantes relacionados con el síndrome de infección recurrente y sus causas. Los pacientes remitidos fueron evaluados clínicamente y por laboratorio para establecer la causa predisponente y detectar alguna inmunodeficiencia primaria de base.

Variables principales medidas: sexo, zona de procedencia, antecedentes familiares y personales, edad de inicio de las infecciones, microorganismos causales, órganos comprometidos, respuesta al tratamiento, presencia de secuelas.

Resultados: entre agosto de 1994 y diciembre de 1999, se evaluaron 422 pacientes remitidos desde diferentes centros de la región, de los cuales 262 (62%) presentaban un síndrome de infección recurrente anormal; se lograron diagnosticar específicamente 60 casos nuevos de inmunodeficiencias primarias y 28 de inmunodeficiencias secundarias. Las deficiencias predominantes de anticuerpos fueron las más frecuentes (46.66%), seguidas por las deficiencias de la inmunidad celular (30%) y las alteraciones en la función de las células fagocíticas (21.66%). Se resalta la elevada prevalencia regional de estos últimos trastornos, en especial del Síndrome de Hiper-IgE con infecciones recurrentes.

Conclusiones: el desarrollo de este programa ha permitido caracterizar a nivel local la infección recurrente y detectar en forma temprana los pacientes con inmunodeficiencias primarias, lo que ha repercutido en un menor desarrollo de secuelas, disminución del número de hospitalizaciones por año, y una mejor calidad de vida de los pacientes y sus familias.

Recomendaciones: la expresión de este tipo de protocolos a otras regiones del país podría generar un impacto interesante sobre la salud de diferentes comunidades, pues invita a racionalizar la atención de los pacientes con infección recurrente.

104

ESTUDIO PARA LA CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PACIENTES CON INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS A PARTIR DE UN DEFECTO CONOCIDO

López Juan Alvaro, Patiño P.J., Montoya C.J., García de O. D.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín,

Colombia.

Las Inmunodeficiencias Primarias son un grupo de desórdenes poco conocidos, que involucran alteraciones genéticas que comprometen cualquiera de los componentes básicos de la respuesta inmune contra los microorganismo, llevando de esta forma a los individuos afectados a un incremento en la susceptibilidad de sufrir infecciones a repetición. En los últimos años se ha dado un gran avance en el estudio de la función del sistema inmune por medio de la biología molecular, lo cual ha sido muy útil para orientar el diagnóstico molecular específico de las inmunodeficiencias.

Objetivo: evaluar fenotípicamente algunas inmunodeficiencias primarias, por medio de sus manifestaciones clínicas y estudios de laboratorio, para luego caracterizar la enfermedad desde el punto de vista molecular.

Métodos: los pacientes analizados fueron sometidos en una primera fase a un proceso de evaluación clínica y de laboratorio, con la finalidad de obtener una caracterización fenotípica de la inmunodeficiencia, que incluyó: hemoleucograma completo con extendido de sangre periférica, electroforesis de proteínas y dosificación de inmunoglobulinas séricas, C3 y C4 séricas, NBT en placa, quimiotaxis bajo agarosa, subpoblaciones de linfocitos T por citometría de flujo, y cultivos de células mononucleares de sangre periférica. Posteriormente, una vez conocido el defecto, se realizó una segunda fase para determinar la caracterización molecular de la enfermedad, ésta involucró Western blot, polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP) y secuenciamiento de los genes comprometidos.

Resultados: se han confirmado 68 diagnósticos fenotípicos de inmunodeficiencia primaria, a partir de los cuales se inició la caracterización molecular. Hasta el momento se han diagnosticado dos pacientes con inmunodeficiencia severa combinada, en los cuales se evaluó la expresión de la tirosina kinasa JAK3 en células mononucleares de sangre periférica por medio de Western blot. Seis pacientes tenían Agamaglobulinemia ligada al X, en cuatro de los cuales se evaluó la expresión de la proteína kinasa de Bruton (Btk); en un paciente, el exón con la posible mutación se analizó por medio de SSCP de DNA genómico y se confirmó por secuenciamiento del DNA: se detectó una delección de una T en la posición 200, lo que produce un cambio en el marco de lectura y la formación de un codón de parada prematuro, llevando presumiblemente a la formación de una proteína no funcional. Adicionalmente, reportamos tres pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, en los cuales se evaluó la expresión de las proteínas p47 y gp91 phox del sistema NADPH oxidasa por Western blot; en dos pacientes hermanos se realizó SSCP y secuenciamiento, caracterizándose el defecto molecular por deficiencia en p47 phox debido a una delección homocigota (AGT) al comienzo del exón 2.

Conclusiones: el desconocimiento en nuestro medio de las inmunodeficiencias primarias puede llevar a realizar un diagnóstico tardío e inadecuado; así, detectar una inmunodeficiencia tempranamente permite garantizar un mejor pronóstico y calidad de vida. Además, la posibilidad de realizar diagnósticos moleculares específicos en nuestro medio, contribuye a brindar una consejería genética adecuada y diseñar una terapia correctiva más racional.



105 INMUNODEFICIENCIA SEVERA COMBINADA: FENOTIPIFICACIÓN, TERAPIA CON GAMAGLOBULINA HUMANA VENOSA Y PROFILAXIS ANTIBIÓTICA

Olivares María Margarita, Montoya C.J., López JA., García de O. D.
Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, U. de Antioquia, Medellín, Colombia.

Introducción: la inmunodeficiencia severa combinada (IDSC) es un síndrome letal caracterizado por una disfunción severa de los linfocitos T y B, cuyo origen genético puede corresponder a diversas alteraciones moleculares. El diagnóstico temprano y la terapia específica o de reemplazo son vitales para mejorar la calidad de vida y el pronóstico.

Objetivo: evaluar los resultados de un esquema de manejo con terapia de reemplazo y profilaxis antibiótica en un paciente con diagnóstico clínico y fenotípico de IDSC.

Métodos: en la consulta ambulatoria del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias se realizó la evaluación clínica completa y los estudios de laboratorio necesarios para establecer el estado general del paciente y su competencia inmunológica. Después de definir el diagnóstico de inmunodeficiencia, se hizo un plan de tratamiento para controlar la presencia de nuevas infecciones y conservar un adecuado estado de salud hasta la realización de una terapia curativa definitiva.

Resultados: a la evaluación clínica se encontró un niño con antecedente de uraco persistente manejado con cirugía a los cuatro meses, complicada por una celulitis periumbilical debida a *Staphylococcus epidermidis*: desde esa época desarrolló nódulos subcutáneos de ubicación difusa y una úlcera crónica no supurativa en la zona deltoidea izquierda (sitio de aplicación de la vacuna de BCG). Entre los cuatro y siete presentó fiebre recurrente asociada a nódulos y abscesos en tejido subcutáneo; a los siete meses se le diagnosticó sepsis y BCGitis, sugiriendo por los antecedentes personales la necesidad de descartar una inmunodeficiencia primaria.

Las subpoblaciones de linfocitos mostraron una notable deficiencia de células CD3+, CD4+, CD8+ y NK, con una cantidad normal de linfocitos CD19+. Las cifras de los diferentes isotipos de inmunoglobulinas séricas fueron demasiado bajas para la edad, con una franca agamaglobulinemia. La evaluación de las células fagocíticas y el complemento sérico fue normal, lo que descartó una inmunodeficiencia de este origen. Los estudios para tuberculosis fueron positivos en jugo gástrico y en biopsias de las lesiones subcutáneas.

Estos resultados de laboratorio confirmaron una inmunodeficiencia severa combinada del tipo T(-), B(+), NK(-). Actualmente se realizan investigaciones para determinar el defecto molecular: una mutación en los genes para la cadena gamma común o la tirosina quinasa JAK3. El diagnóstico permitió iniciar la terapia de reemplazo con Gamaglobulina Humana Venosa, suministrando inicialmente una dosis de 800 mg/kg, para continuar con 400 mg/kg cada 25 días. Además, se instauró profilaxis para *Pneumocystis carinii* y *Candida albicans* con Trimetoprin Sulfá y Fluconazol respectivamente; el tratamiento anti TBC se inició de acuerdo con el régimen acordado supervisado.

Conclusión: la terapia de reemplazo con Gamaglobulina Humana Venosa y la profilaxis antibiótica han permitido que el paciente presente una franca mejoría; no se han presentado nuevos episodios infecciosos ni hospitalizaciones desde el diagnóstico y los niveles de IgG sérica han permanecido en cifras superiores a los 400 mg/dl. No obstante y como era de esperarse, las cifras de las subpoblaciones de linfocitos no han variado con el manejo. Sin embargo, este abordaje permite preservar al paciente en excelentes condiciones para el tratamiento definitivo de la IDSC: el trasplante con células madres hematopoyéticas.



106 INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRÍA DE FLUJO E INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Vargas Uricoechea Hernando, Martínez S., Díaz M., Klinger J.
Laboratorio de Inmunología y Enfermedades Infecciosas, Departamento de Medicina Interna, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia.

Introducción: el recuento de linfocitos T CD4 hace parte fundamental en la evaluación de pacientes con infección por VIH, la medición y recuento de linfocitos T CD8, la relación CD4/CD8 y la expresión de los HLA-DR está poco difundido en la práctica médica, la citometría de flujo permite valorar estos parámetros desde una perspectiva diferente aunque aún es un método poco accesible.

Objetivos: 1. Determinar el patrón citométrico de los pacientes infectados por VIH. 2. Determinar si el patrón citométrico se corresponde con los resultados de ELISA y WESTERN BLOOD en los pacientes con infección por VIH.

Diseño: se lleva a cabo un estudio descriptivo desde junio de 1996 a junio de 2000, en pacientes con diagnóstico de infección por VIH expresado por la presencia de dos mediciones de ELISA positivo para VIH y confirmado por la determinación de inmuno WESTERN BLOOD, a cada paciente se le realizó al menos una inmunofenotipificación la cual incluía: cuantificación de linfocitos T CD4, CD8, relación CD4/CD8, expresión de HLA-DR sobre linfocitos T CD3, cuantificación de linfocitos B1-B2 y Natural Killer (NK). Cada paciente se le asignó una categoría del sistema de clasificación de la definición de casos de pacientes con infección por VIH de acuerdo al nivel de CD4 y a la categoría clínica presente.

Lugar: Servicios de Inmunología, Infectología y Medicina Interna, Hospital Universitario San José, Popayán, Cauca.

Pacientes: pacientes de sexo femenino y masculino con diagnóstico de infección por VIH mayores de 15 años.

Intervenciones: ninguna.

Mediciones: la presentación clínica de los pacientes es la siguiente: C3(52%), A1(16%), C2(15%), A2(10%), A3(3%), B2(2%), B1(1%), C1(1%), no hubo pacientes clasificados como B3.

Resultados: el 99% de los pacientes expresó HLA-DR sobre los linfocitos T CD3 en un porcentaje superior al 60%. La determinación de los linfocitos B1-B2 y NK no demostró alteraciones cuantitativas en ninguno de los pacientes estudiados. El 99% de los pacientes se presentó con recuentos de CD4<500/microlitro, estos mismos pacientes presentaron disminución de la relación CD4/CD8<1.5; EL 1% restante de pacientes presentó recuentos de CD4>500/microlitro con relación CD4/CD8>1.5, éstos últimos fueron clasificados como A1. El 100% de los pacientes correlacionó los hallazgos anteriores con la positividad del ELISA y del inmuno ESTERN BLOOD.

Conclusiones: se demuestra que el patrón citométrico de los pacientes con infección por VIH se correlaciona totalmente con la positividad del ELISA y del inmuno WESTERN BLOOD, este patrón de inmunofenotipo emerge como una fuente de valiosa ayuda para el enfoque diagnóstico del paciente con dicha entidad, se requieren mayores estudios para determinar definitivamente su papel protagónico en el diagnóstico de la infección por VIH.