

## Dialyzed leukocyte extracts for the treatment of recurrent and severe infections in pediatric patients with cellular immunodeficiency: 15 years of experience

### Extractos dializados de leucocitos para el tratamiento de infecciones recurrentes y severas en pacientes pediátricos con inmunodeficiencia celular: 15 años de experiencia

María del Carmen Ayala,<sup>1</sup> Nancy María González,<sup>1</sup> Gerardo Palacios,<sup>1</sup> Lydia Guadalupe Rivera-Morales,<sup>2</sup> Cristina Rodríguez-Padilla<sup>2</sup>

#### Abstract

**Background:** Dialyzable leukocyte extracts (DLE) have been used to treat several cellular immunodeficiency.

**Objective:** To review the experience of a tertiary hospital in the use of DLE for the treatment of recurrent or severe infections in children with acquired cellular immunodeficiency not due to HIV.

**Methods:** We reviewed the medical records of all children who received treatment with EDL of human or bovine origin between 1986 and 2000 to detect recurrent or severe infections without response to a specific antimicrobial therapy and with a quantitative or qualitative deficit in the cellular immune response. The dose of DLE was adjusted according to the percentage of T lymphocytes; the evolution of the patient was evaluated retrospectively for 5 years, the immune response was evaluated by subpopulation of lymphocytes and intradermal tests and inhibition of the leukocyte migration assay (LIF) to PPD, coccidioidin, varidase and candidin.

**Results:** 150 children received DLE, age  $7.0 \pm 5.9$  years. The most frequent indications included upper respiratory tract (71%), lower respiratory tract (43%), gastrointestinal tract (15%), urinary tract (15%) and neurological infections (4%) and coccidioidomycosis (3%). After starting the DLE, the numbers of T lymphocytes, LIF to PPD and varidase ( $> 20\%$ ) and the intradermal induration of the test increased ( $p < 0.001$ ). In 6 patients (4%) recurrences of respiratory and gastrointestinal tract infections were observed, which resolved, no adverse effects attributable to the DLE were reported.

**Conclusions:** The use of DLE for recurrent or severe infectious processes in children with cellular immune deficit improved the clinical evolution and the immunological parameters evaluated without adverse effects attributable to their use.

**Keywords:** Cellular immunodeficiency; Extracted dialyzable leukocytes; Transfer factors; Immunomodulatory; Immunotherapy

Este artículo debe citarse como: Ayala MC, González NM, Palacios G, Rivera-Morales LG, Rodríguez-Padilla C. Extractos dializados de leucocitos para el tratamiento de infecciones recurrentes y severas en pacientes pediátricos con inmunodeficiencia celular: 15 años de experiencia. Rev Alerg Mex. 2019;66(1):27-37

#### ORCID

María del Carmen Ayala, 0000-0003-0681-6804; Nancy María González, 0000-0002-8060-7501; Gerardo Palacios, 0000-0002-8744-2025; Lydia Guadalupe Rivera-Morales, 0000-0001-7329-0449; Cristina Rodríguez-Padilla, 0000-0001-5469-8449



## Resumen

**Antecedentes:** Los extractos dializados de leucocitos (EDL) han sido utilizados en el tratamiento de diversos defectos de la inmunidad celular.

**Objetivo:** Revisar la experiencia en el uso de EDL para tratar infecciones recurrentes o severas en niños con inmunodeficiencia celular adquirida no debida a virus de la inmunodeficiencia oportuna.

**Métodos:** Se revisaron expedientes de niños tratados con EDL humano o bovino entre 1986 y 2000, por infecciones recurrentes o severas sin respuesta a antimicrobianos y con déficit en la respuesta inmune celular. La dosis se ajustó por el porcentaje de poblaciones de linfocitos T. En el seguimiento a cinco años, la respuesta inmune se evaluó por subpoblaciones de linfocitos, intradermorreacción e inhibición de la migración de leucocitos (LIF) a PPD, coccidioidina, varidasa y candidina.

**Resultados:** 150 niños recibieron EDL, edad  $7.0 \pm 5.9$  años. Las indicaciones más frecuentes incluyeron infección respiratoria superior (71 %), respiratoria inferior (43 %), gastrointestinal (15 %), urinaria (15 %), neuroinfección (4 %) y coccidioidomicosis (3 %). Se incrementaron los linfocitos T, el LIF a PPD y varidasa ( $> 20$  %), así como la induración en pruebas de intradermorreacción ( $p < 0.001$ ). Se resolvieron las infecciones que se presentaron (4 %). No se reportaron efectos adversos.

**Conclusiones:** El uso de EDL mejoró los parámetros inmunológicos y la evolución clínica en niños con déficit inmune celular.

**Palabras clave:** Inmunodeficiencia celular; Extractos dializados de leucocitos; Factores de transferencia; Inmunomoduladores

<sup>1</sup>Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Especialidades 25, Unidad Médica de Alta Especialidad, Nuevo León, México

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología e Inmunología, Nuevo León, México

Correspondencia: Gerardo C. Palacios-Saucedo.  
palsaugc@gmail.com

Recibido: 2018-08-08  
Aceptado: 2018-10-26  
DOI: 10.29262/ram.v66i1.531

## Abreviaturas y siglas

EDL, extractos dializados de leucocitos inmunes  
FT, factor de transferencia

LIF, factor de inhibición de leucocitos  
PPD, derivado proteico purificado

## Antecedentes

Desde que Lawrence en 1949 demostró la transferencia adoptiva de inmunidad celular por medio de factores de transferencia (FT), se abrió un panorama amplio en el tratamiento de la inmunomodulación.<sup>1,2,3</sup> Los FT son extractos dializados de leucocitos inmunes (EDL) capaces de transferir, aumentar o desarrollar inmunidad celular en los receptores.<sup>4,5,6</sup> Cuando los EDL de donadores sensibilizados se administran a receptores no sensibilizados, estos adquieren la capacidad de expresar la respuesta inmune mediada por células de los donadores, siendo este efecto antígeno-específico.<sup>5,6</sup>

Los datos actuales sugieren que la transferencia de la información inmunológicamente específica por las moléculas contenidas en los EDL requiere la interacción con una célula genéticamente programada para ser reactiva al antígeno, pero que al momento de la interacción no haya sido instruida. El contacto con las moléculas de EDL permitiría a un receptor virgen montar, en un primer encuentro con el antígeno, una respuesta inmunológica secundaria en lugar de una respuesta primaria. Los EDL de animales o humanos son capaces de transferir esta respuesta inmune específica de antígeno mediante la barrera de las especies. Es probable que las moléculas contenidas en los EDL

interactúan con regiones variables de las cadenas alfa o beta de los receptores de la célula T y cambian su avidéz y afinidad por antígenos en una forma que solo ocurriría después del contacto con el antígeno.<sup>6,7,8,9</sup>

La composición y función de los EDL han sido evaluadas con la prueba de inhibición de la migración de leucocitos (LIF). Este abordaje ha revelado dos actividades antígeno-específicas opuestas que se presentan en la misma fracción dializable > 3500 y < 12 000 Da. Una corresponde a la función inductora/cooperadora (factor inductor) y la otra a la función supresora (factor supresor). Cuando las poblaciones de leucocitos no inmunes se cultivan con el factor inductor, adquieren la capacidad de responder a un antígeno específico y ocurre la inhibición de la migración. Esta conversión a la reactividad es antígeno-específica y dosis-dependiente. Cuando las poblaciones de leucocitos inmunes son cultivadas con el factor supresor, su respuesta a un antígeno específico es bloqueada y se previene la inhibición de la migración.<sup>7,9</sup>

Los EDL actúan como inmunomoduladores, mejorando o modulando la respuesta inmune en inflamación, enfermedades infecciosas y cáncer. Se ha demostrado que ejercen efecto citotóxico contra varias líneas celulares de cáncer y que reducen la carga tumoral *in vivo*.<sup>10</sup> Los EDL también han sido utilizados en el tratamiento de pacientes con diversos defectos en la inmunidad celular.<sup>7,8,9,11,12,13</sup> Varios estudios han demostrado que los EDL aumentan los conteos celulares en la médula ósea, los porcentajes de leucocitos, granulocitos y células de la serie roja y reducen la formación de superóxido y de especies reactivas de oxígeno. Estos hallazgos sugieren que los EDL pueden tener un efecto quimioprotector contra efectos secundarios de algunos agentes quimioterapéuticos, entre ellos 5-FU.<sup>14</sup> Otras investigaciones han demostrado cierto efecto antiinflamatorio y antioxidante de los EDL,<sup>15</sup> los cuales han sido utilizados como adyuvantes en la quimioterapia de varios tipos de cáncer, como el de pulmón y el melanoma.<sup>16,17</sup>

Entre sus ventajas se encuentra su relativa facilidad de preparación, su bajo costo comparado con el de otros inmunomoduladores, no portar microorganismos ni antígenos de histocompatibilidad y que prácticamente no condicionan efectos secundarios.<sup>6,8,12</sup> En el presente estudio se presenta la experiencia de 15 años de un hospital de tercer nivel del noreste de México con el uso de EDL en el tratamiento de infecciones recurrentes y severas en pacientes pediátricos en

quienes se había documentado déficit adquirido cuantitativo o cualitativo en la respuesta inmune celular no debido al virus de la inmunodeficiencia humana.

## Métodos

Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes pediátricos que recibieron tratamiento con Immunepotent CRP bovino o humano entre 1986 y 2000, tanto de pacientes externos como hospitalizados, por el Servicio de Inmunología Pediátrica del Hospital de Especialidades 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Monterrey, en el noreste de México. En todos los casos, las indicaciones de los tratamientos fueron infecciones recurrentes o severas que no respondían a tratamiento antimicrobiano. Se excluyeron del estudio los pacientes seropositivos a virus de inmunodeficiencia humana.

**Preparación y administración de biocompuestos**  
El Immunepotent CRP se elaboró a partir de leucocitos de origen bovino o humano en el Laboratorio de Inmunología y Virología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

El Immunepotent CRP de origen humano, el cual es definido como un extracto dializado de leucocitos humanos con actividad de factor de transferencia, se preparó utilizando el método descrito por Lawrence *et al.*:<sup>1,18</sup>

- A partir de 500 mL de sangre total periférica de donadores humanos reactivos a intradermoreacción específica a los antígenos coccidioidina, varidasa o candidina,<sup>19</sup> colectada en tres bolsas (Fenwal Laboratories, Deerfield, IL, Estados Unidos), se separó el paquete leucocitario y se realizó el conteo del número de leucocitos para determinar el número de unidades (una unidad es la que se obtiene de  $1 \times 10^8$  leucocitos). El paquete leucocitario se sometió a un proceso de lisis mediante 10 ciclos de congelación y descongelación, para posteriormente ser dializado contra agua destilada por 48 horas a 4 °C a través de una membrana con diámetro del poro de 3500 a 12 000 Da. El material dializado se liofilizó y se almacenó a -70° C en viales hasta su utilización, momento en el cual el contenido fue resuspendido en 3 mL de agua estéril para su aplicación intramuscular.<sup>1,13</sup>

En cuanto al Immunepotent CRP bovino:

- Se obtiene de forma estéril por diálisis de un homogeneizado de bazo bovino (diámetro del poro de 12 000 a 14 000 Da, Spectra/Por®, Molecular Porous Membrana Tubing, Spectrum Laboratorios, California, Estados Unidos) y es liofilizado (Freezer Dry System Labconco, Estados Unidos). Es un producto libre de pirógenos, evaluado por el ensayo del lisado de Limulus (Endotoxin-Kit-Timed Gel Formation, Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, Estados Unidos) y libre de bacterias (determinado por el cultivo del producto en diferentes medios de cultivo e in vivo por la inoculación en ratones). Una unidad de EDLb, equivalente al dializado de  $15 \times 10^8$  células de bazo, es disuelta en medio RPMI 1640/10 % SFB estéril y filtrada a través de una membrana con poro de 0.20  $\mu\text{m}$  de diámetro (Corning, Alemania) antes de su uso. Una unidad de EDLb de origen bovino se define como la obtenida en  $10^9$  linfocitos con acción biológica demostrada por estudios *in vivo* e *in vitro*.<sup>15</sup> El preparado se presenta en frasco con

polvo liofilizado, el cual es disuelto en 3 mL de agua estéril para ser administrado por vía intramuscular, oral o tópica durante tres a 24 meses. El Immunepotent CRP bovino es definido como un extracto dializado de células de bazo de bovinos con actividad de factor de transferencia.

En general, la dosis de administración de los dos preparados de EDL se ajustó de acuerdo con el porcentaje de la cuenta de linfocitos T que tenía cada paciente, tomando como valores normales los descritos en el cuadro 1.<sup>20</sup> Los pacientes recibieron solo uno de estos compuestos, ya que en los primeros siete años que abarca el estudio (1986-1993) únicamente se preparaba EDL de origen humano, pero debido a problemas de biodisponibilidad de sangre humana fresca, en la segunda parte del periodo del estudio (1994-2000) los pacientes recibieron exclusivamente EDL de origen bovino.

#### Evaluación del perfil inmunológico

Todos los pacientes fueron evaluados y seguidos de uno a tres meses durante cinco años en la Clínica de Inmunología Pediátrica del Hospital de Especialida-

Cuadro 1. Valores de linfocitos circulantes considerados como normales de acuerdo con la edad en la que fueron evaluados los pacientes durante el periodo que abarcó el estudio

Células	Valor	Edad		
		1 días-11 meses	1-6 años	7-17 años
Linfocitos	%*	39.0-59.0	38.0-53.0	36.0-43.0
	(Abs**)	02.7-5.4	02.9-5.1	02.0-2.7
T	%	58.0-67.0	62.0-69.0	66.0-76.0
	Abs	01.7-3.6	01.8-3.0	01.4-2.0
CD4+	%	38.0-50.0	30.0-40.0	33.0-41.0
	Abs	01.7-2.8	01.0-1.8	00.7-1.1
CD8+	%	18.0-25.0	25.0-32.0	27.0-35.0
	Abs	00.8-1.2	00.8-1.5	00.6-0.9
CD4:CD8		1.5-2.9	1.0-1.6	1.1-1.4
B	%	19.0-31.0	21.0-28.0	12.0-22.0
	Abs	00.5-1.5	00.7-1.3	00.3-0.5
NK	%	08.0-17.0	08.0-15.0	09.0-16.0
	Abs	00.3-0.7	00.2-0.6	00.2-0.3

\*El porcentaje de linfocitos es expresado como el porcentaje del conteo total de células blancas.

\*\*Los conteos absolutos son expresados en  $10^3$  células/mm<sup>3</sup>.

Modificado de referencia 20.

des 25. La respuesta inmune celular, en la que predomina la participación de linfocitos y macrófagos, fue valorada de la siguiente manera:

- Porcentaje de linfocitos T, considerando como valores normales los presentados en el cuadro 1.<sup>20</sup>
- Relación linfocitos T CD4+/linfocitos T CD8+ por citometría de flujo considerando como valores normales los presentados en el cuadro 1.<sup>20</sup>
- LIF a varidasa, derivado proteico purificado (PPD), coccidioidina y candidina, prueba específica para valorar la calidad de la inmunidad celular hacia un antígeno específico *in vitro*, considerándola positiva cuando el porcentaje de inhibición de la migración de los fagocitos fue mayor a 20 %, utilizando como control la migración de las células sin antígeno.
- Prueba cutánea de hipersensibilidad tardía (intradérmica) a los mismos antígenos, prueba confiable para evaluar la calidad de la inmunidad celular, considerándola positiva cuando 48 horas después de su aplicación intradérmica ocurrió eritema e induración mayor de 10 mm.<sup>21,22</sup>

Se consideró con inmunodeficiencia adquirida a todos los pacientes que no reunieran alguno de los criterios descritos. En pacientes que tenían comorbilidades o condiciones que limitaban la respuesta al tratamiento específico o que podían inducir *per se* déficit en la inmunidad, tales como desnutrición, fibrosis quística, deficiencia selectiva de IgA y síndrome de Down, entre otros (cuadro 2), se indicó el tratamiento con EDL porque el proceso infeccioso recurrente o severo no respondía al tratamiento antimicrobiano específico que estaba siendo administrado en las dosis, vía e intervalos de administración y duración apropiados.

#### Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se utilizaron medidas de estadística descriptiva, tales como frecuencias absolutas con porcentajes y media con desviación, así como la prueba de chi cuadrada o de la probabilidad exacta de Fisher para comparar los resultados del estado inmune en escala nominal u ordinal antes y después del tratamiento con EDL. Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

Cuadro 2. Enfermedades de base en 150 pacientes pediátricos con inmunodeficiencia celular al inicio del tratamiento con extractos dializados de leucocitos

	n	%
Asma bronquial	22	14.6
Rinitis alérgica	19	12.6
Deficiencia de IgA	11	7.3
Retraso psicomotor	6	4
Deficiencia de IgG	6	4
Dermatitis atópica	6	4
Fibrosis quística	5	3.3
Síndrome Down	4	2.6
Cardiopatía congénita	4	2.6
Miastenia gravis	3	2
Emesis en estudio	2	1.3
Lupus eritematoso sistémico	2	1.3
Artritis reumatoide juvenil	2	1.3
Encefalomiелitis desmielinizante	2	1.3
Intolerancia a la lactosa	2	1.3
Dermatitis atópica	2	1.3
Receptor de trasplante renal	1	0.6
Linfoma de Hodgkin en remisión	1	0.6
Neutropenia cíclica	1	0.6
Hipertensión pulmonar congénita	1	0.6
Vasculitis leucocitoclástica	1	0.6
Autismo	1	0.6
Enfermedad granulomatosa	1	0.6
Epilepsia	1	0.6
Neumopatía crónica	1	0.6
Hipotiroidismo	1	0.6
Enfermedad de Behçet	1	0.6
Síndrome de Noonan	1	0.6
Pubertad precoz	1	0.6
Angioedema	1	0.6
Púrpura anafilactoide/alopecia areata	1	0.6
Síndrome de malabsorción intestinal	1	0.6
Ninguna	36	24

## Resultados

Se incluyeron 150 pacientes pediátricos, 79 (52.7 %) del sexo masculino y 71 (47.3 %) del femenino, con edades entre cinco meses y 18 años (media de  $7 \pm 5.9$  años). La distribución por grupos de edad fue 63 niños (42 %) de cero a dos años, 48 (32 %) de tres a seis años, 27 (18 %) de siete a 11 años y 12 (8 %) de 12 a 18 años. No se incluyeron 15 niños elegibles, 10 porque no se les realizaron las mediciones para evaluar la respuesta inmune celular posterior al inicio y durante el tratamiento con Immunepotent CRP y cinco porque no se pudo contar con el expediente clínico. El Hospital de Especialidades 25 ofrece cobertura médica a derechohabientes de siete estados del noreste de México. Así, los estados de procedencia de los pacientes de esta serie fueron Nuevo León en 105 (70 %), Coahuila en 24 (16 %), Tamaulipas en 10 (6.8 %), San Luis Potosí en seis (4 %), Zacatecas en tres (2 %), Chihuahua en uno (0.6 %) y Durango en uno (0.6 %).

Los 150 pacientes incluidos tenían el diagnóstico de inmunodeficiencia de tipo celular, 127 (84.6 %) con alteración en la cantidad de linfocitos T y 138 (92 %) en la calidad de dichas células. Presentaron alteración en la cantidad y en la calidad de los linfocitos T, 115 niños (76.6 %), con un déficit promedio de 45 % en la respuesta inmune celular (límites 20 a 70 %). El único inmunomodulador que recibieron estos pacientes fue Immunepotent CRP, con excepción de dos niños a quienes al principio se les agregó levamisol. Todos recibieron el tratamiento correspondiente a su enfermedad de base, así como el tratamiento antimicrobiano para el proceso infeccioso con el que cursaban.

Se observaron antecedentes familiares de enfermedad autoinmune en cuatro pacientes, uno cuyo padre tenía artritis reumatoide, otro con un tío paterno con esclerosis múltiple y dos con un hermano y un primo finados con el diagnóstico de inmunodeficiencia celular. Las patologías de base más frecuentes fueron asma bronquial en 22 (14.6 %), rinitis alérgica en 19 (12.6 %), deficiencia de IgA en 11 (7.3 %), retraso psicomotor en seis (4 %), deficiencia de IgG en seis (4 %), dermatitis atópica en seis (4 %), fibrosis quística en cinco (3.3 %), síndrome de Down en cuatro (2.6 %), cardiopatía congénita en cuatro (2.6 %) y miastenia gravis en tres (2 %) (cuadro 2).

El síntoma de inicio fue fiebre en 50 pacientes (33.3 %). Los cuadros infecciosos con los que cursaban los pacientes al inicio del tratamiento con EDL

fueron diversos: diarrea crónica en 22 (14.6 %), infección del tracto respiratorio superior recurrente en 107 (71.3 %), tales como faringoamigdalitis de repetición, sinusitis crónica, infección del tracto respiratorio inferior 65 (43.3 %), como bronquiolitis y neumonía recurrente o severa, infección de vías urinarias recurrente 22 (14.6 %), meningitis 6 (4 %), herpes simple 6 (4 %) y coccidiodomicosis 5 (3.3 %), entre otros. Cursaron con más de un proceso infeccioso 72 pacientes (48 %). Todos los pacientes recibieron Immunepotent CRP solo hasta que se documentó falta de respuesta al tratamiento convencional para estos padecimientos y una vez que se evidenció el defecto en la respuesta inmune celular. Estuvieron hospitalizados 60 pacientes (40 %), con un promedio de estancia hospitalaria de 20 días (cuadro 3).

En 142 pacientes (94.6 %) se utilizó Immunepotent CRP específico a varidasa. En cinco pacientes (3.3 %) se utilizó Immunepotent CRP de donadores con intradermorreacción positiva a coccidiodina y en tres (2 %) a candidina. El Immunepotent CRP se administró por vía intramuscular en todos los pacientes (100 %). En 10 pacientes (6.6 %) fueron administrados también por vía oral y en dos en forma tópica para el tratamiento de lesiones dérmicas de origen infeccioso. La dosis se calculó de acuerdo con el porcentaje de linfocitos T, con un total de  $29 \pm 12$  dosis durante todo el tratamiento, la cual fue administrada diariamente en una a dos aplicaciones cuando el proceso infeccioso era más severo. Conforme el paciente presentaba mejoría clínica y de laboratorio, la administración se espaciaba a intervalos de una a dos dosis por semana y posteriormente, una dosis cada 15 días o cada mes. La duración del tratamiento fue de tres a 24 meses.

En 127 pacientes (84.6 %), las cifras de linfocitos T eran bajas antes del inicio del tratamiento con EDL; después de iniciar dicho tratamiento, 141 de los 150 niños incluidos (94 %) presentaron incremento ( $p < 0.001$ ). En cuanto a la relación linfocitos T CD4+/CD8+, antes del tratamiento con EDL, 90 niños (60 %) presentaron cifras elevadas de CD4+, 45 (30 %) cifras elevadas de CD8+ y 15 (10 %) una relación normal. En cambio, después del inicio de dicho tratamiento la relación CD4+/CD8+ fue de 2:1 en 141 niños (94 %), lo que evidenció un equilibrio adecuado entre los linfocitos T CD4+ y CD8+ (cuadro 4).

El LIF a varidasa fue normal ( $> 20$  %) solo en nueve pacientes antes del tratamiento con EDL

(6 %), pero después de la administración de estos, 141 pacientes (94 %) tuvieron LIF normal. Solamente 6 % (nueve pacientes) persistió con resultados menores de 20 % (cuadro 4). A otros 30 pacientes se les midió LIF a PPD, que fue normal en ocho (26.6 %) antes del tratamiento con EDL y en 24 (80 %) después del inicio de la aplicación de estos. Solamente tres pacientes (10 %) persistieron con cifras menores a 20 % aún durante el tratamiento, lo que demuestra que hubo mejoría en la calidad de la función del linfocito T ( $p < 0.001$ ).

El estudio inicial de intradermorreacción, como fue descrito en la sección de material y métodos, fue no reactivo en 135 (90 %) niños y reactivo en los 15 restantes (10 %). En el estudio de control después del inicio del tratamiento con EDL, la intradermorreacción fue no reactiva en 23 (15.3 %) y reactiva en 127 niños (84.7 %) (cuadro 4). Debido a que los cinco pacientes con coccidioidomicosis tardaron más tiempo en presentar reactividad en la intradermorreacción, hasta un año en algunos, se continuó con la administración de EDL específicos para *Coccidioides immitis* en aplicación intramuscular una vez al mes. Hasta la conclusión del tiempo de seguimiento (por lo menos durante cinco años) ninguno había presentado recaídas.

Hubo dos defunciones debidas a complicaciones de fibrosis quística, que se consideraron como no asociadas con el uso de Immunepotent CRP ya que previamente los pacientes habían tenido respuesta favorable al tratamiento con este. En los cultivos de secreción bronquial de los dos pacientes se aislaron *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*.

Antes de iniciar el tratamiento con Immunepotent CRP presentaban desnutrición de segundo grado 36 pacientes (24 %) y de tercer grado 12 (8 %). Después del inicio de tratamiento, estas cifras se redujeron a ocho (5.3 %) y dos (1.3 %), respectivamente ( $p < 0.05$ ) (cuadro 4).

Después del inicio del tratamiento con Immunepotent CRP, en todos los pacientes se observó evolución clínica favorable con rápido control de la fiebre y resolución del proceso infeccioso, menor frecuencia de recurrencias o reinfecciones y menor número de ingresos hospitalarios. En un niño con autismo con cuadros enterales de difícil control y en otro con retraso psicomotor severo y cuadros respiratorio severos y recurrentes, además de resolverse el proceso infeccioso se apreció mejoría en el desa-

Cuadro 3. Procesos infecciosos en 150 pacientes pediátricos con inmunodeficiencia de tipo celular al inicio del tratamiento con extractos dializados de leucocitos

	n	%
Infección recurrente de vías respiratorias superiores	107	71.3
Neumonía recurrente o severa o bronquiolitis	65	43.3
Fiebre de origen a determinar	50	33.3
Infección de vías urinarias recurrente	22	14.6
Diarrea crónica	22	14.6
Herpes simple oral o genital	6	4
Meningitis	6	4
Coccidioidomicosis diseminada	5	3.3
Dermatosis de origen infeccioso	3	2
Endocarditis bacteriana	2	1.3
Vulvovaginitis severa y de difícil control	2	1.3
Escabiosis noruega	1	0.6
Osteomielitis	1	0.6

72 pacientes (48 %) presentaron dos o más procesos infecciosos.

rollo conductual y neurológico después del inicio del tratamiento con Immunepotent CRP. El tiempo de evolución hacia la mejoría después de iniciado el tratamiento fue variable de acuerdo con el diagnóstico de base, el estado nutricional y el proceso infeccioso que motivó el inicio de Immunepotent CRP. No se reportaron efectos adversos o indeseables atribuibles al uso de este durante el tiempo de su administración ni en el periodo posterior de vigilancia de cinco años y de hasta 14 años en algunos niños.

## Discusión

Los EDL han sido utilizados en el tratamiento de pacientes con diversos defectos en la inmunidad celular, ya que permiten transferir desde donadores inmunes sensibilizados a receptores no sensibilizados la capacidad de expresar respuesta inmune mediada por células antígeno-específica.<sup>4,6,7,8,9,11</sup> Los EDL son productos dializables de bajo peso molecular con efectos inmunes específicos, como reacciones de

Cuadro 4. Estado inmunológico y nutricional antes y después del inicio de tratamiento con extractos dializados de leucocitos en 150 pacientes pediátricos con inmunodeficiencia celular

Parámetro	Tratamiento con EDL				p*
	Antes		Después		
	n	%	n	%	
<b>Linfocitos T</b>					
Disminuidos	127	84.6	9	6	< 0.001
Normales	23	15.4	141	94	
<b>Relación linfocitos CD4+/CD8+</b>					
Anormal	135	90	9	6	< 0.001
Normal	15	10	141	94	
<b>LIF a varidasa</b>					
> 20 %	9	6	141	94	< 0.001
≤ 20 %	141	94	9	6	
<b>Intradermorreacción</b>					
Reactiva	15	10	127	84.6	< 0.001
No reactiva	135	90	23	15.4	
<b>Estado nutricional</b>					
Peso normal	<0.00135	23.3	105	70	
Desnutrición grado I	65	43.3	34	22.7	< 0.001
Desnutrición grado II	36	24	8	5.3	< 0.001
Desnutrición grado III	12	8	2	1.3	0.006
Sobrepeso u obesidad	2	1.3	1	0.6	0.500

EDL = extracto dializado de leucocitos, LIF = inhibición de la migración de leucocitos.

\*Obtenida utilizando la prueba de chi cuadrada o de la probabilidad exacta de Fisher.

hipersensibilidad retardada y efectos inespecíficos, como el aumento en las poblaciones de linfocitos T y los efectos en la función citotóxica dependiente de anticuerpos, en la actividad quimiotáctica de los monocitos y neutrófilos y en la acumulación de GMP cíclico en los monocitos.<sup>1,8,23,24</sup> En el presente estudio se evaluó la experiencia del uso de Immunepotent CRP en 150 pacientes pediátricos de la clínica de inmunología pediátrica de un hospital de tercer nivel de atención, cuya cobertura médica incluye varios millones de personas del noreste de México.

Todos los pacientes incluidos tenían el diagnóstico de inmunodeficiencia celular, la mayoría con alteración en la cantidad de linfocitos T (84.6 %) o en la calidad de dichas células (92 %); 76.6 % presentaba alteración de ambas, así como una o más patologías de base, las cuales eran de naturaleza variada. Además de la inmunodeficiencia detectada, algunos

cursaban con patologías autoinmunes, neoplásicas, alérgicas, de naturaleza genética, etcétera. Al ingresar al estudio, presentaban diversas complicaciones infecciosas, cuyo comportamiento era severo, crónico o recurrente y que no respondían al manejo antimicrobiano específico a las dosificaciones, vía de administración y tiempo adecuados.

Los EDL o FT son pequeñas proteínas que “transfieren” la capacidad de expresar inmunidad mediada por células de un donador inmune a un receptor no inmune. Han demostrado ser efectivos en corregir la inmunidad celular deficiente en pacientes con infecciones oportunistas tales como coccidiodiosis y herpes simple, y en proveer inmunidad contra varicela Zoster en pacientes con leucemia aguda.<sup>8,11,25,26,27,28</sup> Kirkpatrick *et al.* desarrollaron un proceso de purificación de factores de transferencia específicos con homogeneidad aparente, lo que per-

mitió separar los factores de transferencia individuales de las mezclas que contienen varios de ellos y así demostrar su especificidad antigénica. Los factores de transferencia de origen bovino y murino fueron purificados por cromatografía líquida de alta resolución, con la que se identificó una secuencia nueva de aminoácidos LLYAQDL/VEDN, la cual representa una porción de estos factores que puede ayudar a definir los mecanismos de acción de los mismos.<sup>29</sup> Por otro lado, Hadden describió que por su modo de acción es posible distinguir dos actividades diferentes condicionadas por los EDL:

- La primera es inespecífica e incrementa las actividades del sistema inmune como un adyuvante.
- La segunda es específica y, como su nombre lo indica, solo aumenta la respuesta contra un antígeno determinado.<sup>26</sup>

Aunque varios laboratorios han tenido éxito en la purificación parcial del principio activo, ninguno ha logrado producir una preparación homogénea.<sup>8,26</sup> En cuanto a la actividad específica, es importante la selección de donadores en los que las pruebas cutáneas sean fuertemente positivas para el antígeno en cuestión, de otro forma la ausencia de respuesta en receptores de EDL puede ser atribuida al uso de preparaciones inadecuadas.<sup>7</sup>

En el presente estudio se observó mejoría significativa en las cifras de linfocitos T y en la calidad funcional de los mismos. Los pacientes con coccidiodomosis tardaron más tiempo, hasta un año, para que la intradermorreacción fuera positiva, lo cual probablemente haya sido debido a la evolución natural de la enfermedad, además de que se trataba de pacientes con afectación sistémica grave.<sup>30</sup> Sin embargo, después del inicio del tratamiento con Immunepotent CRP hasta el cierre de este estudio no habían presentado recaídas, a diferencia de lo esperado en la evolución natural de la coccidiodomosis. En estos pacientes, por vía intramuscular se administraron EDL específicos para *Coccidioides immitis*, con los que mostraron mejoría clínica y por laboratorio, así como disminución del tiempo de estancia hospitalaria. El tratamiento ambulatorio continuó con dosis de sostén: una aplicación intramuscular cada mes para mantener memoria inmunológica. La normalización de la relación linfocitos CD4+/CD8+ en la mayoría de los pacientes después del inicio del tratamiento, evidenció un equilibrio en el sistema

inmune asociado con el incremento de los linfocitos T y mejoría de su función, que podría ser atribuida al uso de Immunepotent CRP.

Los pacientes con herpes simple (tipo 1 y 2) presentaron resolución de los cuadros agudos y menos recurrencias con la administración de Immunepotent CRP por vía intramuscular y oral. Estos datos se correlacionan en parte con los obtenidos por Estrada *et al.*, quienes observaron importante mejoría en la respuesta a la terapia de inmunomodulación con factores de transferencia, con una reducción significativa en la frecuencia de recurrencias en los pacientes con herpes oral.<sup>27</sup> Piz-za *et al.*, por otro lado, describen también resultados significativos al administrar factores de transferencia específicos para virus herpes simple, al reducir la frecuencia de recaídas de herpes oral y genital.<sup>28</sup>

En los pacientes pediátricos con inmunodeficiencia celular analizados en el presente trabajo no se encontró diferencia en su actividad entre el empleo del Immunepotent CRP humano y bovino. La vía de administración fue intramuscular en la mayoría, pero en algunos fue también oral o tópica. En el estudio de Kirkpatrick se comparó la administración vías oral y subcutánea, no encontrando diferencia significativa en la respuesta de hipersensibilidad tardía, por lo que se concluyó que la vía de administración oral es eficaz.<sup>29,31</sup>

De los pacientes analizados, un niño con autismo recibió Immunepotent CRP, con el que mostró mejoría en su desarrollo neurológico, lo cual había sido reportado en un estudio piloto realizado por Fudenberg.<sup>32</sup> Los pacientes con asma bronquial, dermatitis atópica y rinitis alérgica permanecieron asintomáticos por mayor tiempo después del tratamiento con Immunepotent CRP.

## Conclusiones

El efecto favorable sobre el estado nutricional probablemente esté relacionado con la reducción en la frecuencia de los cuadros infecciosos severos y recurrentes que presentaban los pacientes antes del inicio del tratamiento con Immunepotent CRP. También es probable que la desnutrición que presentaban los pacientes antes del tratamiento no fuera consecuencia de su estrato socioeconómico, ya que todos eran hijos de padres con un trabajo estable, sino a la inmunodeficiencia celular y a los procesos infecciosos severos y recurrentes secundarios. El hecho de no haber detectado efectos adversos o indeseables atribuibles al

Immunepotent CRP durante y después de su administración sugiere que el uso de estos puede ser seguro.

Los resultados del presente estudio muestran que el uso de Immunepotent CRP parece inducir mejoría en la respuesta inmune celular, con incremento en el porcentaje de linfocitos T, normalización de la relación CD4+/CD8+ y de la respuesta LIF a varidasa, PPD y coccidioidina, y en la intradermoreacción a los mismos antígenos. Esta mejoría en la respuesta inmune celular se tradujo en mejoría clínica de los pacientes, al reducirse el número y severidad de las recurrencias de las complicaciones infecciosas. Además, debido a que no se observaron efectos indesea-

bles atribuibles al uso del Immunepotent CRP, los resultados sugieren que pueden ser una alternativa efectiva y segura para el tratamiento de niños con inmunodeficiencia celular que cursan con complicaciones infecciosas severas y recurrentes, lo cual podría no solo impactar favorablemente el crecimiento y desarrollo de los niños, sino también en mejorar la calidad de vida de estos. No obstante, se requieren más estudios básicos que permitan una mejor caracterización del o los principios activos del Immunepotent CRP y, sobre todo, ensayos clínicos aleatorizados a gran escala para contar con conclusiones definitivas sobre el efecto clínico de este tipo de tratamiento.

## Referencias

1. Lawrence HS. The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin in man. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1949;71(4):516-522. DOI: 10.3181/00379727-71-17242
2. Salazar-Villa RM, Mejía-Ortega J. Uso del factor de transferencia en el asma bronquial alérgica. *Rev Alerg Mex.* 1993;40(2):42-45.
3. Valdés-Sánchez AF, Fernández-Ortega C, Gómez-Echeverría AH, Gillama-Niebla E, Lastra-Alfonso G, López-Saura PA. Dermatitis atópica. Tratamiento con factor de transferencia. Ensayo clínico controlado. *Rev Alerg Mex.* 1991;38(6):158-162.
4. Abramson A, Khan A, Tate GW, Martin RG, Hill NO. Immunocompetence and transfer factor therapy in uveitis. *Br J Ophthalmol.* 1980;64(5):332-338. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1043690/>
5. Dwyer JM. Transfer factor in the age of molecular biology: a review. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):7-11. DOI: 10.1007/BF02628650
6. Lawrence HS, Borkowsky W. Transfer factor: current status and future prospects. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):1-5. DOI: 10.1007/BF02628649
7. Steele RW, Myers MG, Vincent MM. Transfer factor for the prevention of varicella-Zoster infection in childhood leukemia. *New Engl J Med.* 1980;303(7):335-339. DOI: 10.1056/NEJM198008143030702
8. Sánchez-González DJ, Sosa-Luna CA, Vásquez-Moctezuma I. Factores de transferencia en la terapéutica médica. *Med Clin (Barcelona).* 2011;137(6):273-277. DOI: 10.1016/j.medcli.2010.05.002
9. Cruz-Barrios MA, Rodríguez-Montiel BN, Furones-Mourrelle JA, Martín-De la Riva AD, Guerra-Suárez LM, Páez-Pérez AT. Patrones de prescripción del factor de transferencia en 11 hospitales de ciudad de la Habana, 2002. *Rev Cubana Salud Pub.* 2005;31(4):291-295. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21418845004>
10. Martínez-Torres AC, Reyes-Ruiz A, Benítez-Londoño M, Franco-Molina MA, Rodríguez-Padilla C. Immunepotent CRP induces cell cycle arrest and caspase-independent regulated cell death in HeLa cells through reactive oxygen species production. *BMC Cancer.* 2018;18(1):13. DOI 10.1186/s12885-017-3954-5
11. Wu HM, Tang JL, Cao L, Sha ZH, Li Y. Interventions for preventing infection in nephritic syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(4):CD003964. DOI: 10.1002/14651858.CD003964.pub3
12. Gómez-Vera J, Chávez-Sánchez R, Flores-Sandoval G, et al. Factor de transferencia y alergia. *Rev Alerg Mex.* 2010;57:220-227.
13. Navarro-Cruz D, Serrano-Miranda E, Orea-Solano M, et al. Factor de transferencia en dermatitis atópica moderada y severa. *Rev Alerg Mex.* 1996;43(5):116-123.
14. Coronado-Cerda EE, Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Prado-García H, Rivera-Morales LG, Zapata-Benavides P, et al. In vivo chemoprotective activity of bovine dialyzable leukocyte extract in mouse

- bone marrow cells against damage induced by 5-Fluorouracil. *J Immunol Res.* 2016;2016:6942321. DOI: 10.1155/2016/6942321
15. Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Zapata-Benavides P, Vera-García ME, Castillo-Tello P, García-De-La-Fuente A, et al. Immunepotent CRP (bovine dialyzable leukocyte extract) adjuvant immunotherapy: a phase I study in non-small cell lung cancer patients. *Cytotherapy.* 2008;10(5):490-496. DOI: 10.1080/14653240802165681
  16. Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Miranda-Hernández DF, Sierra-Rivera CA, Zapata-Benavides P, Vera-García ME, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of Immunepotent CRP in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human macrophages. *Afr J Microbiol Res.* 2011;5:3726-3736.
  17. Rodríguez-Salazar MDC, Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Martínez-Torres AC, Zapata-Benavides P, López-González JS, et al. The novel immunomodulator Immunepotent CRP combined with chemotherapy agent increased the rate of immunogenic cell death and prevented melanoma growth. *Oncol Lett.* 2017;14(1):844-852. DOI: 10.3892/ol.2017.6202
  18. Lawrence HS, Al-Askari S. The preparation and purification of transfer factor. En: Bloom BR, Glade PR (editors). *In vitro methods in cell mediated immunity.* EE. UU.: Academic Press; 1971.
  19. Cavazos-Cavazos AM. Inmunoterapia con factor de transferencia en pacientes con coccidioidomicosis. [Tesis de maestría]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 1989.
  20. Hannet I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyère M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today.* 1992;13(6):215-218. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90157-3
  21. Shearer WT. Monitoring cellular immune function in HIV infection by the delayed hypersensitivity skin test: alternative to the CD4 T-cell count? *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103(1 Pt 1):26-28. DOI: 10.1016/S0091-6749(99)70520-8
  22. Kalish R, Askenasa P. Molecular mechanism of CD8+ T cell-mediated delayed hypersensitivity: implications for allergies, asthma and autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:192-199.
  23. Borkowsky W, Lawrence HS. Effects of human leukocyte dialyzable containing transfer factor in the direct leukocyte migration inhibition (LMI) assay. *J Immunol.* 1979;123(4):1741-1748.
  24. Gerbase-DeLima M, Carlquist I, Mendes NF. Specificity of the local transfer of cell-mediated immunity with dialyzable transfer factor. *Cell Immunol.* 1979;48(1):231-234. DOI: 10.1016/0008-8749(79)90115-1
  25. Kirkpatrick CH. Transfer factors: identification of conserved sequences in transfer factor molecules. *Mol Med.* 2000;6(4):332-341. Disponible en: <https://www.extratosalergenicos.com.br/Papers/imunotransferan/Transfer%20Factors%20Identification%20of%20Conserved%20Sequences.pdf>
  26. Hadden W. Immunopharmacology: immunomodulation and immunotherapy. *JAMA.* 1987;258(22):2008-2017. DOI: 10.1001/jama.1997.03550220214027
  27. Estrada-Parra S, Chávez-Sánchez R, Ondarza-Aguilera R, Correa-Meza B, Serrano-Miranda E, Monges-Nicolau A, et al. Immunotherapy with transfer factor of recurrent herpes simplex type I. *Arch Med Res.* 1995;26:S87-S92.
  28. Pizza G, Viza D, De Vinci C, Palareti A, Cuzzocrea D, Fornarola V, et al. Orally administered HSV-specific transfer factor (TF) prevents genital or labial herpes relapses. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):67-72.
  29. Kirkpatrick CH, Hamond AR, Morton LC. Murine transfer factors: dose-response relationships and routes of administration. *Cell Immunol.* 1995;164(2):203-206. DOI: 10.1006/cimm.1995.1162
  30. Cid-Chávez DM, Ruiz-Pedraza MD, Sánchez-Sánchez LM, Staines-Boone AT, Castro-Pineda J, Palacios-Saucedo GD. Características clínicas e inmunológicas en pacientes pediátricos con coccidioidomicosis en el noreste de México. *Gac Med Mex.* 2013;149:541-547. Disponible en: [https://www.anmm.org.mx/GMM/2013/n5/GMM\\_149\\_2013\\_5\\_541-547.pdf](https://www.anmm.org.mx/GMM/2013/n5/GMM_149_2013_5_541-547.pdf)
  31. Kirkpatrick CH. Activities and characteristics of transfer factors. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):13-16. DOI: 10.1007/BF02628651
  32. Fudenberg HH. Dialysable lymphocyte extract (DLYe) in infantile onset autism: a pilot study. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):143-147. DOI: 10.1007/BF02628672