

Revista  
**Alergia**  
México



Órgano Oficial del Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia, A.C.  
y de la Sociedad Latinoamericana de Alergia, Asma e Inmunología

**Presidente** | Dr. Miguel Alejandro Medina Ávalos (Drmedina63@yahoo.com.mx)  
**Vicepresidente** | Dra. Doris Nereida López Lizárraga (vacunas@yahoo.com)

**Editor Emérito** | Dr. Jesús Pérez Martín  
**Editor en Jefe** | Dra. Nora Hilda Segura Méndez (norasegura@yahoo.com)  
**Coeditores** | Dra. Med. Sandra Nora González Díaz (sgonzalezdiaz@alergiashu.org, sgonzalezdiaz@yahoo.com)  
Dr. Guillermo Velázquez Sámano (sgonzalezdiaz@alergiashu.org, sgonzalezdiaz@yahoo.com)  
**Editores de Sección** | Dra. María Guadalupe Novalés. Metodología de la Investigación  
Dr. Leopoldo Santos Argumedo. Inmunología  
**Editores Asociados** | Dra. María Eugenia Vargas Camaño  
Dra. Désirée Erlinda Sophia Larenas Linnemann  
Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez  
Dr. Alejandro Escobar Gutiérrez  
Dr. Alfredo Arias Cruz  
Dr. Eleazar Mancilla Hernández  
Dr. Juan Carlos López  
Dr. Francisco Navarro Reynoso

**Revista Alergia México**, año 63, núm. 1, enero-marzo 2016, es una publicación trimestral, órgano oficial del Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia, A.C. y de la Sociedad Latinoamericana de Alergia, Asma e Inmunología.

Editor responsable: Nora Hilda Segura Méndez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo núm. 04-2014-111212383000-102 otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Certificado de Licitud de Título: 12350. Certificado de Licitud de Contenido: 9913 otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación. ISSN: 0025-151 por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Autorización como Publicación Periódica por Sepomex núm. de registro: PP09-1500.

Impresa en Roma Color SA de CV. Pascual Orozco 70, colonia San Miguel Iztacalco, CP 08650, México, DF. Este número se terminó de imprimir el 20 de febrero de 2015 con un tiraje de 500 ejemplares.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia, A.C.

Publicación realizada, comercializada y distribuida por Edición y Farmacia SA de CV. José Martí 55, colonia Escandón, Delegación Miguel Hidalgo, CP 11800, México, DF. Tel.: 5678-2811, [www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx), [articulos@nietoeditores.com.mx](mailto:articulos@nietoeditores.com.mx)

Diseño y formación: Elidé Morales del Río.

**Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia, A.C.** Antonio M. Anza núm. 27, Colonia Roma, 06700, México, DF. Tel. 55742435.

E-mail: [cmica\\_@prodigy.net.mx](mailto:cmica_@prodigy.net.mx). Consulte el contenido completo en: [www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)



## CONTENIDO

### ARTÍCULOS ORIGINALES

- 1 **Análisis *in silico* de lipocalinas de perro, gato, caballo, vaca, hámster y gallina. Posible efecto en el estudio de las enfermedades alérgicas**  
*Andrés Sánchez, Ricardo Cardona, Jorge Sánchez*
- 11 **Sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción con dos concentraciones del extracto estandarizado de *Culex quinquefasciatus* en niños alérgicos**  
*Raúl L. Castro-Almarales, Mirta Álvarez-Castelló, Mercedes Ronquillo-Díaz, José S. Rodríguez-Canosa, Mayda González-León, Bárbara I. Navarro-Viltre, Daniel Betancourt-Mesia, Irene Enríquez-Domínguez, Mary Carmen Reyes-Zamora, Yunia Oliva-Díaz, Maytee Mateo-Morejón, Alexis Labrada-Rosado*
- 20 **Immunoglobulina E total como marcador de alergia en el noroeste de México**  
*Francisca Ramírez-Enríquez, Jesús Prado-Rendón, Jesús Lachica-Valle, Jaime Valle-Leal*
- 26 **Identificación de microorganismos asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable**  
*Gabriela Angulo-Pérez, Eulalio Vivar-Acevedo, Diana Andrea Herrera-Sánchez*
- 32 **Efecto de la rinitis y el asma en el ausentismo y rendimiento laboral y escolar en una población del trópico latinoamericano**  
*Jorge Sánchez, Javier Estarita, Carolina Salemi*

### ARTÍCULO DE REVISIÓN

- 41 **Factores comunes e inductores de inflamación en asma y obesidad**  
*Gloria Bertha Vega-Robledo, Rodrigo Huerta-Gutiérrez de Velasco, Guadalupe Rico-Rosillo*

### INMUNOLOGÍA

- 58 **Los linfocitos B y las inmunodeficiencias primarias**  
*Gabriela López-Herrera*
- 71 **Ontogenia de los linfocitos B**  
*Juan Carlos Baladrán, Rosana Pelayo*

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

- 80 **El protocolo de investigación II: los diseños de estudio para investigación clínica**  
*Miguel Ángel Villasís-Keever, María Guadalupe Miranda-Novales*

### CASOS CLÍNICOS

- 91 **Síndrome hemofagocítico asociado con hepatitis**  
*Eunice Sandoval-Ramírez, Ignacio Camacho-Meza, Nery Eduardo-Solís, Oswaldo Plascencia-Tabares, Efraín Navarro-Olivos, Francisco Ignacio Ortiz-Aldana*
- 95 **Trasplante de progenitores hematopoyéticos en un paciente con enfermedad granulomatosa crónica en México**  
*Nideshda Ramírez-Urbe, Claudia Hernández-Martínez, Gerardo López-Hernández, Martín Pérez-García, Emmanuel Ramírez-Sánchez, Sara Elva Espinosa-Padilla, Marco Yamazaki-Nakashimada, Alberto Olaya-Vargas, Lizbeth Blancas-Galicia*
- 104 **Anafilaxia dependiente de cereales inducida por ejercicio**  
*Marta Seoane-Rodríguez, María Elisa Caralli, Cristina Morales-Cabeza, Sarah Micozzi, Manue De Barrio-Fernández, Patricia Rojas Pérez-Ezquerro*

## CONTENTS

### ORIGINAL ARTICLES

- 1 ***In silico* analysis of the identity of lipocalin of dog, cat, horse, cow, hamster and hen. Possible role in allergic diseases**  
*Andrés Sánchez, Ricardo Cardona, Jorge Sánchez*
- 11 **Sensitivity and specificity of prick skin test with two concentrations of standardized extract of *Culex quinquefasciatus* in allergic children**  
*Raúl L. Castro-Almarales, Mirta Álvarez-Castelló, Mercedes Ronquillo-Díaz, José S. Rodríguez-Canosa, Mayda González-León, Bárbara I. Navarro-Viltre, Daniel Betancourt-Mesia, Irene Enríquez-Domínguez, Mary Carmen Reyes-Zamora, Yunia Oliva-Díaz, Maytee Mateo-Morejón, Alexis Labrada-Rosado*
- 20 **Total immunoglobulin E as marker of allergy at Northeast of Mexico**  
*Francisca Ramírez-Enríquez, Jesús Prado-Rendón, Jesús Lachica-Valle, Jaime Valle-Leal*
- 26 **Identification of microorganisms related to chronic rhinosinusitis in adult patients with variable common immunodeficiency**  
*Gabriela Angulo-Pérez, Eulalio Vivar-Acevedo, Diana Andrea Herrera-Sánchez*
- 32 **Rhinitis and asthma as a cause of absenteeism and poor work/school performance in a population from Latin-American tropic**  
*Jorge Sánchez, Javier Estarita, Carolina Salemi*

### REVIEW ARTICLE

- 41 **Common and inductors factors of inflammation in asthma and obesity**  
*Gloria Bertha Vega-Robledo, Rodrigo Huerta-Gutiérrez de Velasco, Guadalupe Rico-Rosillo*

### IMMUNOLOGY

- 58 **Lymphocytes B and primary immunodeficiencies**  
*Gabriela López-Herrera*
- 71 **B lymphocyte ontogeny**  
*Juan Carlos Baladrán, Rosana Pelayo*

### RESEARCH METHODOLOGY

- 80 **The research protocol II: study designs for clinical research**  
*Miguel Ángel Villasís-Keever, María Guadalupe Miranda-Novales*

### CLINICAL CASES

- 91 **Hemophagocytic syndrome associated to hepatitis**  
*Eunice Sandoval-Ramírez, Ignacio Camacho-Meza, Nery Eduardo-Solís, Oswaldo Plascencia-Tabares, Efraín Navarro-Olivos, Francisco Ignacio Ortiz-Aldana*
- 95 **Hematopoietic progenitors transplantation in a patient with chronic granulomatous disease in Mexico**  
*Nideshda Ramírez-Urbe, Claudia Hernández-Martínez, Gerardo López-Hernández, Martín Pérez-García, Emmanuel Ramírez-Sánchez, Sara Elva Espinosa-Padilla, Marco Yamazaki-Nakashimada, Alberto Olaya-Vargas, Lizbeth Blancas-Galicia*
- 104 **Cereal-dependent exercise-induced anaphylaxis**  
*Marta Seoane-Rodríguez, María Elisa Caralli, Cristina Morales-Cabeza, Sarah Micozzi, Manue De Barrio-Fernández, Patricia Rojas Pérez-Ezquerro*

# Análisis *in silico* de lipocalinas de perro, gato, caballo, vaca, hámster y gallina. Posible efecto en el estudio de las enfermedades alérgicas

Andrés Sánchez<sup>1-3</sup>, Ricardo Cardona<sup>3</sup>, Jorge Sánchez<sup>4</sup>

## Resumen

**ANTECEDENTES:** las lipocalinas parecen explicar la reactividad cruzada entre animales como gato y perro, pero poco se ha estudiado acerca de su papel en la reactividad cruzada con otros animales y su efecto clínico.

**OBJETIVOS:** analizar por técnicas bioinformáticas la identidad entre lipocalinas de diferentes especies y explorar la utilidad de estas técnicas en el estudio de las alergias.

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio *in silico* en el que se buscaron las secuencias de lipocalinas utilizando el programa BLAST. Las secuencias de proteínas se alinearon con el programa CLUSTAL Omega versión 1.2.1 de UniProt. Las secuencias base de los alineamientos fueron las lipocalinas de perros y gatos. La identidad entre las lipocalinas se comparó con la frecuencia de sensibilización a animales en una población de 284 pacientes alérgicos.

**RESULTADOS:** las secuencias mostraron identidades entre 10 y 70%. Los valores más altos se encontraron entre Can f 6-Fel d 4 (68%) y Fel d 4-Equ c 1 (68%). La identidad más baja fue con las lipocalinas purpurina y proteína de unión al retinol del gallo (menor de 20%). Observamos una relación entre el patrón de sensibilización y el grado de identidad entre las especies estudiadas.

**CONCLUSIONES:** a partir de los estudios bioinformáticos y los patrones de sensibilización encontrados se propone que Fel d 4 y Equ c 1 son posibles alérgenos mayores para gato y caballo en la población del trópico y comparten alta reactividad cruzada con Can f 6. Debido a que estos resultados provienen de modelos predictivos, deben confirmarse con estudios *in vitro* e *in vivo*.

**PALABRAS CLAVE:** alergia, aves, bioinformática, caballo, gato, gallina, identidad, lipocalinas, mascotas, sensibilización.

<sup>1</sup> Universidad de Magdalena, Departamento de Medicina, Santa Marta, Colombia.

<sup>2</sup> Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Medicina, Cartagena, Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Alergología Clínica y Experimental. IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Grupo de Alergología Experimental e Inmunogenética, Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.

Recibido: 25 de mayo 2015

Aceptado: 27 de noviembre 2015

## Correspondencia

Dr. Jorge Sánchez  
jotamsc@yahoo.com

## Este artículo debe citarse como

Sánchez A, Cardona R, Sánchez J. Análisis *in silico* de lipocalinas de perro, gato, caballo, vaca, hámster y gallina. Posible efecto en el estudio de las enfermedades alérgicas. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):1-10.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):1-10.

## *In silico* analysis of the identity of lipocalin of dog, cat, horse, cow, hamster and hen. Possible role in allergic diseases.

Andrés Sánchez<sup>1,3</sup>, Ricardo Cardona<sup>3</sup>, Jorge Sánchez<sup>4</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Lipocalins seem to explain the cross-reactivity between some pets such as cat and dog. However, its role in other animals and its possible clinical impact in allergy diseases have been scarcely studied.

**OBJECTIVE:** To analyze by bioinformatics techniques, the identity between lipocalin of some animals and to explore the clinical impact on allergic diseases.

**MATERIAL AND METHOD:** An *in silico* study was done to search for lipocalin sequences using the BLAST program of NCBI Database. The protein sequences were aligned with CLUSTAL Omega UniProt version 1.2.1 software. The base sequences for alignments were lipocalins dogs and cats. The defined percentage identity was compared with the frequency of sensitization to animals exposed in a population of 284 patients with suspected allergic diseases.

**RESULTS:** Identities between sequences were 10% to 70%. The highest values were found with Can f 6-Fel d 4 (68%) and Fel d 4-Equ c 1 (68%). The lower identity was found with lipocalin porpurin and retinol binding (<20%). We observed a relationship between sensitization and the percent identity between the species studied.

**CONCLUSIONS:** Lipocalins as Can f 6, Fel de 4 and Equ c 1 seem to play an important role in the cross-reactivity to cat, horse and dog but not for the co-sensitization to hamster, cow or birds. Fel de 4 and Equ c 1 could be a prevalent allergen for horse and cat. These results come from predictive analysis and must be confirmed by *in vitro* and *in vivo* studies.

**KEYWORDS:** allergy; birds; bioinformatics; horse; cat; hen; identity; lipocalin; pets; sensitization

<sup>1</sup> Universidad de Magdalena, Departamento de Medicina, Santa Marta, Colombia.

<sup>2</sup> Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Medicina, Cartagena, Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Alergología Clínica y Experimental. IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Grupo de Alergología Experimental e Inmunogenética, Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.

### Correspondence

Dr. Jorge Sánchez  
jotamsc@yahoo.com

### ANTECEDENTES

La frecuencia de atopía y enfermedades alérgicas, como asma, rinitis y conjuntivitis es alta y parece que la incidencia está aumentando especialmente en los países industrializados.<sup>1</sup>

Entre las principales fuentes de alérgenos están las mascotas; existe un número creciente de familias en Latinoamérica con mascotas en sus casas. Si la exposición prolongada a mascotas es un factor de riesgo de, o protector contra, la aparición de alergias es un tema aún en discusión;

sin embargo, entre los pacientes con sospecha de alergias, las guías médicas recomiendan realizar las medidas de evitación,<sup>2</sup> pero por diferentes motivos, entre ellos emocionales, la mayoría de los pacientes tiene dificultades para conseguir este objetivo; además, la efectividad clínica de esta recomendación no es clara.<sup>3</sup>

Un problema adicional para lograr las medidas de evitación es la reactividad cruzada entre algunas mascotas, especialmente entre gatos y perros, que son las mascotas que con más frecuencia generan alergias en Europa.<sup>4</sup> En estudios previos observamos que la sensibilización a mascotas también es prevalente en algunas ciudades de Latinoamérica.<sup>5</sup> Las lipocalinas son proteínas que transportan pequeñas moléculas, como esteroides, retinoides y lípidos. Esta familia de proteínas está presente en la mayor parte de los mamíferos, al igual que en bacterias, nematodos e insectos, y son alérgenos importantes como causa de la reactividad cruzada entre caballo, gato y perro. Sin embargo, poco se sabe acerca del papel de las lipocalinas en la sensibilización a otras fuentes comunes en Latinoamérica.

Los análisis bioinformáticos, entre los que se incluyen los análisis *in silico* (simulación por computadoras), son una herramienta útil para el modelamiento y la predicción de la estructura de las proteínas. Estas herramientas pueden ayudar a predecir alérgenos mayores potenciales y pueden explicar la reactividad cruzada entre dos o más fuentes de alérgenos. Si en una población la frecuencia de sensibilización a varias fuentes es conocida, los análisis de alineamiento y la identidad entre las proteínas pueden ser el primer paso para identificar los alérgenos principales que explican los patrones de sensibilización y cosensibilización entre las especies. Posteriormente, es necesario demostrar si los alérgenos identificados como probables son realmente alérgenos mayores mediante estudios *in vivo*. En este estudio exploramos por medio de técnicas

bioinformáticas la identidad entre las lipocalinas de perro, gato, caballo, vaca, hámster y gallina y su posible papel en las alergias a animales en la población del trópico.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Secuencias de lipocalinas

Estudio *in silico* en el que se buscaron lipocalinas utilizando el programa BLAST de la base NCBI, con las secuencias validadas hasta el 20 de noviembre de 2014. Sólo se incluyeron las proteínas alérgicas con una identificación completa de la secuencia de ARN mensajero de perro, gato, caballo, hámster y vaca. Además, se incluyeron dos lipocalinas de gallina no identificadas como alérgicas (Purpurina y proteína de unión a retinol: RBP) para tener secuencias comparativas de este grupo taxonómico. Las entradas de secuencias parciales o cortes alternativos se excluyeron. Algunas lipocalinas potencialmente alérgicas, como Equ c 2, no se incluyeron en este estudio debido a que la secuencia reportada en la base NCBI es incompleta.

Las secuencias proteicas se alinearon usando el programa CRUSTAL Omega, Versión 1.2.1. de UniProt. Las secuencias base para los alineamientos fueron las lipocalinas de perro y gato, debido a que son las mascotas más comunes en las casas.

### Análisis filogenéticos

Los análisis filogenéticos basados en las secuencias de ARN (11 secuencias de nucleótidos) se realizaron mediante el método de reconstrucción de Neighbor-Joining con el programa MEGA (*molecular evolutionary genetics analysis*) versión 6, usando el método *bootstrap* como prueba de filogenia con 500 replicaciones. Para determinar la distancia filogenética utilizamos el método de la máxima probabilidad compuesta, teniendo en cuenta el número de sustituciones de base

por cada sitio. Todas las posiciones con espacios vacíos se eliminaron (deleciones completas). Para todos los cruces, las posiciones de codón incluidas para los análisis fueron primero+segundo+tercero+secuencias no codificantes. Debido al número de secuencias de lipocalinas utilizadas no realizamos subanálisis filogenéticos.

### Selección de la población

Usamos una cohorte de pacientes previamente reportada<sup>5</sup> y agregamos pacientes nuevos reclutados durante el periodo de junio de 2012 a marzo de 2014. Recolectamos 284 pacientes con diagnóstico de asma, rinitis o dermatitis atópica que asistieron al servicio de Alergología Clínica de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia) y requirieron una prueba cutánea con alérgenos para identificar los posibles alérgenos ambientales. Durante la cita para la prueba se interrogó a los pacientes acerca de los detonantes sospechosos y la existencia de mascotas en casa o la exposición indirecta a animales. Luego de la prueba cutánea, los pacientes recibieron información de manera verbal y por escrito acerca de las medidas de control ambiental para las fuentes a las que estuvieron sensibilizados.

Como un criterio de inclusión, a todos los pacientes se les evaluó la sensibilización a *Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, epitelio de gato y perro. Incluimos extractos adicionales de animales en los pacientes con contacto o con sospecha de síntomas por otros animales (por ejemplo, caballo, hámster, pájaros, gallinas, etc.). El diagnóstico se estableció de acuerdo con las guías GINA de asma ([www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)), ARIA de rinitis,<sup>6</sup> el Consenso Latinoamericano de Conjuntivitis<sup>7</sup> y los criterios de Hanifin y Rajka de dermatitis atópica.<sup>8</sup>

Para la prueba cutánea intraepidérmica usamos los extractos estandarizados de los laboratorios

Leti e Inmunotek (Madrid, España) y las recomendaciones internacionales para su lectura (habón 3 mm mayor que el control negativo).<sup>4,9</sup> Todos los pacientes suspendieron la administración de antihistamínicos u otros fármacos el tiempo requerido antes de la prueba.

### Consideraciones éticas

Para la revisión de las historias clínicas y los datos de los pacientes se obtuvo la aprobación del comité de ética de la institución hospitalaria. Las secuencias se tomaron de la base de datos de NCBI, por lo que son de acceso abierto.

### Análisis estadísticos

Los análisis se realizaron con el programa IBM SPSS versión 21 para Windows. Los resultados se expresaron como porcentajes de frecuencia y en números absolutos. Se usaron análisis de correlación, prueba de  $\chi^2$  o regresiones logísticas multivariantes para medir las diferencias entre los grupos.

## RESULTADOS

### Identidad de las lipocalinas

Las lipocalinas seleccionadas se muestran en el Cuadro 1. Se realizaron 38 alineamientos entre las lipocalinas incluidas. Las secuencias bases utilizadas fueron las lipocalinas de perro y gato (Cuadro 2). Las secuencias mostraron una gran variabilidad entre las identidades (10 a 70%). La mayor identidad se encontró entre los alineamientos de Can f 6-Fel d 4 con valores de 68% y Fel d 4-Equ c 1 con 68%, seguido por Can f 1 -Fel d 7 con 61% y Can f 6-Equ c 1 con 58% (Figura 1). La menor identidad se encontró entre los alineamientos para porpurina y RBP con las otras especies, que fue menor de 20% (Cuadro 3 y 4).

**Cuadro 1.** Lipocalinas seleccionadas para los alineamientos

Lipocalina	Código	Base de datos (secuencia ARNm)	Entrada (Swissprot)	Número de aminoácidos
<b>Perro (<i>Canis familiaris</i>)</b>				
Can f 1	ALL1_CANFA	AF027177	0.18873	174
Can f 2	ALL2_CANFA	AF027178	0.18874	180
Can f 4	D7PBH4_CANFA	GU132996	D7PBH4	174
Can f 6	H2B3G5_CANFA	HE653774	H2B3G5	190
<b>Gato (<i>Felis domesticus o catus</i>)</b>				
Fel d 4	ALL4_FELCA	AY497902	Q5VFH6	186
Fel d 7	E5D2Z5_FELCA	GU108332	E5D2Z5	180
<b>Bovine (<i>Bos taurus</i>)</b>				
Bos d 2	ALL2_BOVIN	L42867	Q28133	172
<b>Caballo (<i>Equus caballus</i>)</b>				
Equ c 1	ALL1_HORSE	U70823	Q95182	187
<b>Gallina/gallo (<i>Gallus gallus o domesticus</i>)</b>				
Purpurina	PURP_CHICK	M17538	P08938	196
RBP	RET4_CHICK	X77960	P41263	196
<b>Hámster (<i>Phodopus sungorus</i>)</b>				
Pho s 21 kDa	S5ZYD3_PHOSU	KF148615	S5ZYD3	151

Lipocalinas seleccionadas de diferentes animales para análisis bioinformáticos.

RBP: proteína de unión al retinol (*retinol binding proteins*).

**Cuadro 2.** Identidad entre las lipocalinas de perro y gato

Alineamiento	Identidad (%)	Núm. de aminoácidos idénticos	Núm. de aminoácidos similares
<b>Perro-gato</b>			
Can f 1-Fel d 4	23	43	61
Can f 1-Fel d 7	61	110	46
Can f 2-Fel d 4	25	48	68
Can f 2-Fel d 7	24	45	64
Can f 4-Fel d 4	25	48	66
Can f 4-Fel d 7	19	37	50
Can f 6-Fel d 4	68	130	38
Can f 6-Fel d 7	23	43	62

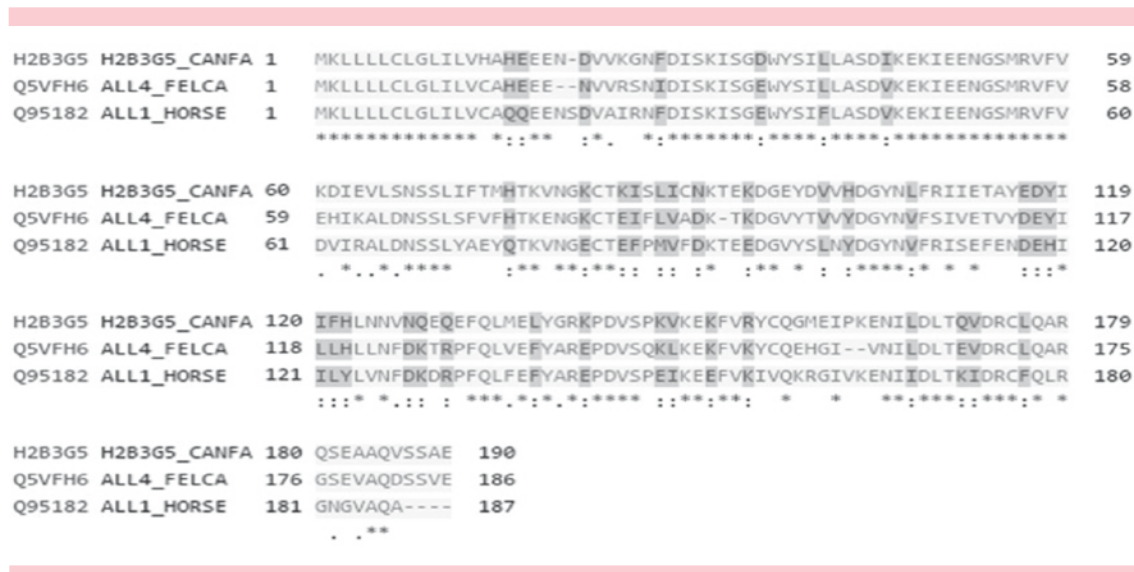
Con la lipocalina de hámster (Pho s 21 kDa), la identidad con otras especies también fue baja: Can f 4-Pho s 21 kDa: 25%. Fel d 7-Pho s 21 kDa: 17%. La lipocalina de la vaca Bos d 2 mostró valores entre 18 y 30%, la mayor identidad se encontró con Can f 4 con un valor de 31% (Cuadros 3 y 4).

### Análisis filogenéticos

El árbol óptimo con una longitud de ramificación igual a 5.00589491 se muestra en la Figura 2. El porcentaje de árboles replicados (500 repeticiones) se muestra en la Figura 2. El árbol se muestra a escala, la longitud de la ramificación representa la distancia evolutiva en la cantidad de cambios acumulados; sin embargo, se debe tener en cuenta que el método Neighbor-Joining sólo hace agrupaciones de "miembros similares", sin tomar en cuenta el reloj molecular, por lo que la distancia evolutiva es sólo aproximada de acuerdo con la identidad de las proteínas estudiadas. Hubo 411 posiciones en la base final.

### Características de la población y sensibilización a animales

De los 284 pacientes, 149 eran mujeres (Cuadros 5 y 6). La edad media fue de 20 años. La mayoría de los pacientes tenían enfermedades respiratorias



**Figura 1.** Estructura de alineamiento entre Can f 6, Fel d 4 y Equ c 1. Los aminoácidos identificados están indicados con “\*”, los aminoácidos similares están indicados con “.” y resaltados en gris oscuro.

(90%) y 38 pacientes (13%) tenían síntomas respiratorios y cutáneos; 227 pacientes (80%) tenían atopía, 151 pacientes (53%) fueron positivos a uno o varios animales. El perro (n=136, 48%) y el gato (n=27, 9.5%) fueron las fuentes causantes con más frecuencia de sensibilización entre mascotas; 18 pacientes positivos a gato lo fueron también a perro. Seis pacientes fueron positivos a caballo y todos ellos lo fueron a gato y perro. Cuatro de ellos tenían una alta exposición a caballo; 33 (14%) pacientes fueron positivos a pájaros, 24 de ellos fueron positivos a gato o perro; 135 pacientes positivos a perro (99%) resultaron sensibilizados a ácaros y todos los pacientes positivos a gato lo fueron a los ácaros; 219 (77%) pacientes estuvieron expuestos a algún animal: 133 (46%) a perro, 86 (30%) a gato, 70 (24%) a pájaros y 33 (11%) a otros animales, como caballo, hámster y conejo. No pudimos evaluar si existía una relación entre la exposición a mascotas y los síntomas, debido a que la población estaba conformada totalmente por pacientes alérgicos y no había controles. La única asociación entre exposición y sensibilización fue a pájaros (p menor de 0.1, media: 2.8, IC 95%: 1.3-6).

**Relación entre identidad de lipocalinas y patrón de sensibilización**

Observamos que el porcentaje de identidad de algunas lipocalinas está estrechamente relacionado con el patrón de sensibilización. La mayor identidad se encontró para Can f 6, Fel d 4 y Equ c 1, con frecuencia alta de cosensibilización a perro, gato y caballo (p menor de 0.05). Las lipocalinas de gallina, hámster y vaca tenían poca identidad y poca frecuencia de cosensibilización con gato y perro. Debido a que esta asociación podría estar relacionada con el grado de exposición, realizamos un subanálisis, considerando la exposición animal como una covariable, y no observamos una relación significativa entre la exposición directa a caballo, hámster, vaca, gallina, gato o perro y sensibilización.

**DISCUSIÓN**

Los patrones de sensibilización pueden variar de acuerdo con las condiciones geográficas y socioculturales de una región.<sup>10-12</sup> De acuerdo



**Cuadro 3.** Identidad entre lipocalinas usando las secuencias del perro como base

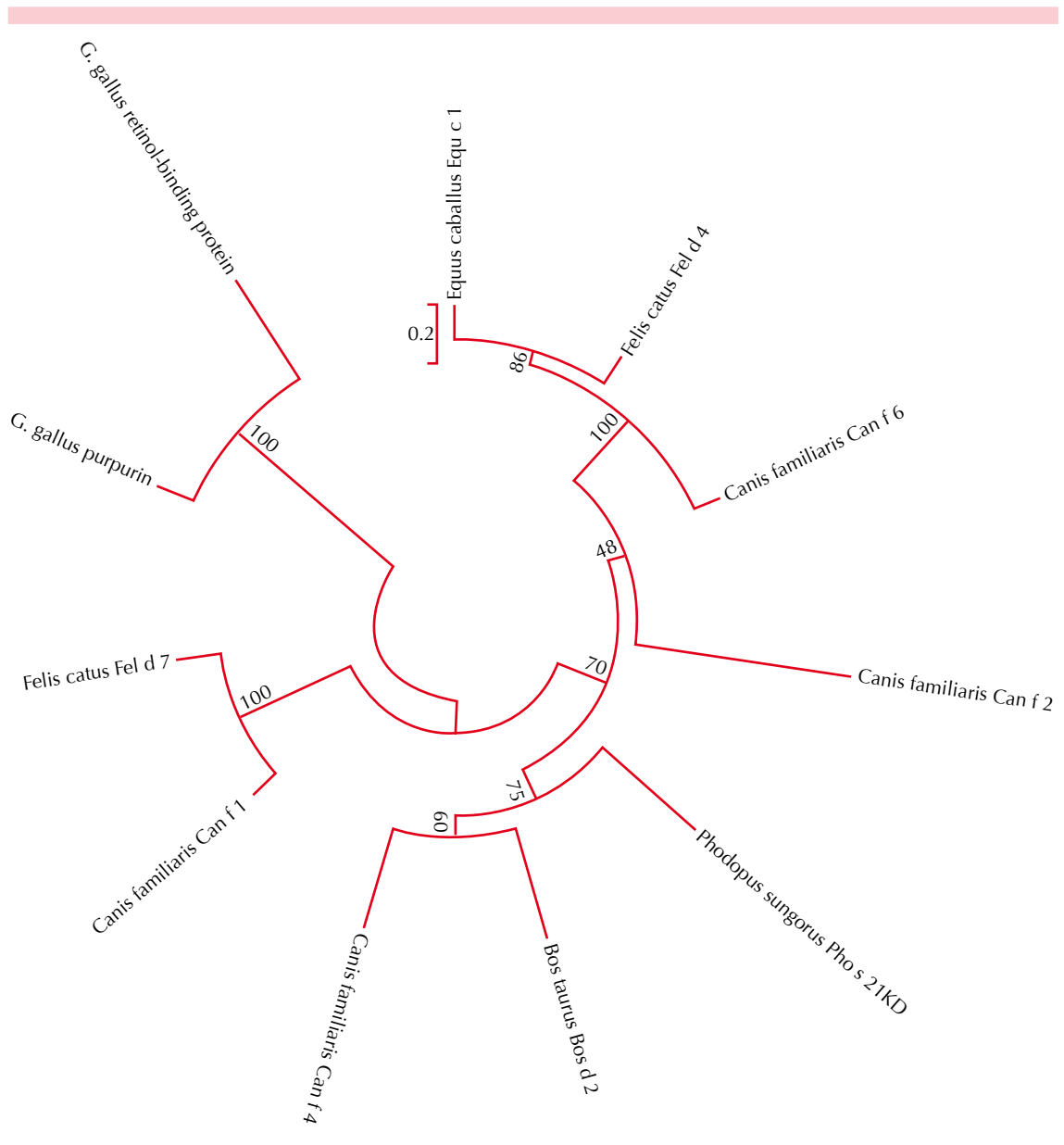
Alineamiento	Identidad (%)	Núm. de aminoácidos idénticos	Núm. de aminoácidos similares
<b>Caballo-bovino</b>			
Can f 1-Bos d 2	19	35	57
Can f 2-Bos d 2	18	34	65
Can f 4-Bos d 2	31	54	56
Can f 6-Bos d 2	25	47	63
<b>Perro-caballo</b>			
Can f 1-Equ c 1	25	46	59
Can f 2-Equ c 1	26	49	70
Can f 4-Equ c 1	27	52	63
Can f 6-Equ c 1	58.	111	48
<b>Perro-gallina</b>			
Can f 1 -Purpurin	13	28	57
Can f 1-PUR	14	29	63
Can f 2-Purpurin	13	28	59
Can f 2-PUR	17	35	66
Can f 4-Purpurin	13	28	46
Can f 4-PUR	15	36	38
Can f 6-Purpurin	14	33	51
Can f 6-PUR	17	37	63
<b>Perro-hámster</b>			
Can f 1-Pho s 21 kDa	17	31	60
Can f 2-Pho s 21 kDa	13	25	67
Can f 4-Pho s 21 kDa	25	44	58
Can f 6-Pho s 21 kDa	21	41	64

con el Ministerio de Salud de Colombia ([www.minproteccion-social.gov.co](http://www.minproteccion-social.gov.co)) y la Sociedad Protectora de Animales, alrededor de una de cada tres casas en el Valle de Aburrá tiene mascotas (perros 86% y gatos 17%) y 23% tiene al menos dos mascotas de especies diferentes. Estos datos sugieren que hay una alta concentración de partículas derivadas de animales en el aire de Medellín. Sin embargo, no encontramos una relación directa entre la frecuencia de exposición a gatos o perros y sensibilización. Esto puede explicarse por la alta frecuencia de exposición indirecta en la escuela, el trabajo o el vecindario, que es difícil de cuantificar y, considerando los datos epidemiológicos comentados, ésta debe ser alta en esta región.

**Cuadro 4.** Identidad entre lipocalinas usando a gato como secuencia base

Alineamiento	Identidad (%)	Núm. de aminoácidos idénticos	Núm. de aminoácidos similares
<b>Gato-bovino</b>			
Fel d 4-Bos d 2	28	53	64
Fel d 7-Bos d 2	19	38	54
<b>Gato-caballo</b>			
Fel d 4-Equ c 1	68	130	30
Fel d 7-Equ c 1	24	45	60
<b>Gato-gallina</b>			
Fel d 4-Purpurina	16	35	57
Fel d 4-PUR	17	38	60
Fel d 7-Purpurina	17	36	50
Fel d 7-PUR	18	38	54
<b>Gato-hámster</b>			
Fel d 4-Pho s 21 kDa	19	36	67
Fel d 7-Pho s 21 kDa	17	34	45

Otro factor importante que puede repercutir en la alta sensibilización a estos animales es la reactividad cruzada a la familia de proteínas lipocalinas. Entre las especies de perro, gato y caballo<sup>13</sup> esta situación favorece la cosensibilización entre pacientes que tienen poca exposición a los animales. En nuestra población, esto podría explicar, al menos en parte, la alta cosensibilización a caballo, gato y perro. Con base en los análisis bioinformáticos, sugerimos que la cosensibilización podría ser por la alta identidad entre Can f 6, Fel d 4 y Equ c 1. De acuerdo con el patrón de sensibilización, todos los pacientes sensibilizados a caballo lo estuvieron también a perro, por lo que Equ c1 podría ser el principal alérgeno de caballo. Por la reactividad cruzada Can f 6 puede ser un importante alérgeno para perro, pero no el único, porque la mayoría de los pacientes sensibilizados a perro no lo estuvieron a gato o caballo. Fel d 4 podría ser un alérgeno importante para gato en nuestra población si se toma en cuenta la alta identidad que tiene con Can f 6 y la alta frecuencia de cosensibilización a perro entre los pacientes sensibilizados a gato; sin embargo, estas predicciones deben confirmarse



**Figura 2.** Árbol filogenético. El árbol óptimo con la suma de la longitud de la rama es igual a 5.00589491.

por métodos *in vivo* o *in vitro*. Nuestros resultados son similares a los encontrados por otros autores, lo que sugiere una alta probabilidad de reactividad cruzada, demostrada por análisis de inhibición y competición utilizando la técnica de ELISA entre Fel d 4, Can f 6 y Equ c 1.<sup>14,15</sup> De

cualquier manera, la frecuencia de sensibilización a gato, perro y caballo es diferente entre las poblaciones, por lo que los factores del ambiente y las características genéticas de cada población influyen de manera importante en la prevalencia de la sensibilización a diferentes fuentes.

**Cuadro 5.** Características generales de la población (n=284)

Datos generales	Núm. (%)
Sexo	
Mujer	149 (52)
Hombre	135 (48)
Fenotipos	
Asma	159 (56)
Rinitis	237 (83)
Conjuntivitis	135 (47)
Eccema	71 (25)
Edad (años)	Media 20 (límites: 1 a 71)

**Cuadro 6.** Características de la población por sensibilización (n=284)

Datos generales	Núm. (%)
Atopia	227 (80)
Perro	136 (48)
Gato	27 (9.5)
<b>Pájaros*</b>	
Canarios, pericos, palomas y gallinas	33 (14.5)
<b>Otros animales**</b>	
Caballo, conejo, hámster, cerdo	7 (7)

\*n=227. \*\*n=94.

Comparado con otras especies, se sabe poco acerca de la familia de lipocalinas y sus propiedades alergénicas en la gallina, vaca y hámster.<sup>16</sup> Observamos una baja cosensibilización a hámster o vaca con gato o perro. Esta baja cosensibilización concuerda con la baja identidad entre las lipocalinas de estas especies y su mayor distancia filogenética. Existen pocos estudios acerca de la sensibilización a los pájaros.<sup>5,17-21</sup> Observamos que la frecuencia de sensibilización a pájaros como grupo fue mayor de 10%, pero la sensibilización a gallina, paloma, periquito o canario separadamente fue menor de 5%.<sup>5,22</sup> Esta baja frecuencia de sensibilización, comparada con la de gato o perro, puede deberse a que pocas personas en nuestra población tienen pájaros como mascota, pero también puede deberse a la poca identidad con las lipocalinas de otras especies como gato o perro. La exposición directa parece tener mayor importancia en la sensibilización

a pájaros que la reactividad cruzada a otras especies. Sin embargo, sólo tomamos las lipocalinas de gallina debido a que hasta nuestro conocimiento, son las únicas reportadas al momento, por lo que no podemos asegurar que la baja identidad observada con gato y perro se extienda a otras especies de pájaros.

Nuestro estudio tiene algunas fortalezas y limitaciones. Debido a que es un estudio *in silico*, las asociaciones encontradas entre los patrones de cosensibilización y la identidad de las lipocalinas nos permite explorar los alérgenos que pueden tener mayor posibilidad de ser clínicamente relevantes en nuestra población, su efecto en la reactividad cruzada e identificar las posibles fuentes principales de sensibilización. Sin embargo, estos resultados, al ser predictivos, deben confirmarse con estudios *in vitro* para ratificar que los alérgenos identificados son los causantes de la reactividad cruzada y las frecuencias de sensibilización encontradas; sin embargo, éste sería el primer paso para una búsqueda *in vitro* dirigida.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los análisis bioinformáticos y los patrones de sensibilización en una población del trópico, proponemos que algunas lipocalinas pueden tener un importante papel en la cosensibilización a gato, perro y caballo, pero no para hámster, vaca o pájaros. Fel d 4 y Equ c 1 podrían ser alérgenos mayores para caballo y gato.

## Agradecimientos

El Grupo de Alergología Clínica y Experimental (GACE) de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia) financió este estudio.

## REFERENCIAS

1. Dennis RJ, Caraballo L, García E, Rojas MX, et al. Prevalence of asthma and other allergic conditions in Colombia 2009-2010: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med* 2012;12:17.

2. Macías Weinmann A, Escamilla Weinmann C, Pazos Salazar NG, Valdés Burnes DA, González Díaz SN. [Sensitivity to animals' allergens in people working with animals]. *Rev Alerg Mex* 2010;57:185-189.
3. de Jong AB, Dikkeschei LD, Brand PL. Sensitization patterns to food and inhalant allergens in childhood: a comparison of non-sensitized, monosensitized, and polysensitized children. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22:166-171.
4. Burbach G, Heinzerling L, Edenharter G, Bachert C, et al. GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy* 2009;64:1507-1515.
5. Sánchez J, Diez S, Cardona R. Frecuencia de sensibilización a animales en un área tropical. *Rev Alerg Mex* 2014;61:81-89.
6. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:466-476.
7. Santos MS, Alves MR, Freitas D, Sousa LB, et al. Ocular allergy Latin American consensus. *Arq Bras Oftalmol* 2011;74:452-456.
8. Hanifin JM. Diagnostic criteria for atopic dermatitis: consider the context. *Arch Dermatol* 1999;135:1551.
9. Heinzerling LM, Burbach GJ, Edenharter G, Bachert C, et al. GA(2)LEN skin test study I: GA(2)LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy* 2009;64:1498-1506.
10. De Knop KJ, Verweij MM, Grimmelikhuijsen M, Philipse E, et al. Age-related sensitization profiles for hazelnut (*Corylus avellana*) in a birch-endemic region. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22(1 Pt 2):e139-49.
11. Matricardi PM, Bockelbrink A, Beyer K, Keil T, et al. Primary versus secondary immunoglobulin E sensitization to soy and wheat in the Multi-Centre Allergy Study cohort. *Clin Exp Allergy* 2008;38:493-500.
12. Liccardi G, Salzillo A, Piccolo A, D'Amato G. Skin prick test to horse should be included in the standard panel for the diagnosis of respiratory allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010;20:93-94.
13. Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22:454-461.
14. Hilger C, Kuehn A, Hentges F. Animal lipocalin allergens. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012;12:438-447.
15. Nilsson OB, Binnmyr J, Zoltowska A, Saarne T, et al. Characterization of the dog lipocalin allergen Can f 6: the role in cross-reactivity with cat and horse. *Allergy* 2012;67:751-757.
16. Torres JA, de Las Heras M, Maroto AS, Vivanco F, et al. Molecular and immunological characterization of the first allergenic lipocalin in hamster: the major allergen from Siberian hamster (*Phodopus sungorus*). *J Biol Chem* 2014;289:23382-23388.
17. Chapman JA, Williams S. Aeroallergens of the southeast Missouri area: a report of skin test frequencies and air sampling data. *Ann Allergy* 1984;52:411-418.
18. Linna O, Niinimäki A, Mäkinen-Kiljunen S. Immunologic cross-reactivity between hen's feather and house-dust-mite allergen extracts. *Allergy* 1994;49:795-796.
19. Kemp TJ, Siebers RW, Fishwick D, O'Grady GB, et al. House dust mite allergen in pillows. *BMJ* 1996;313:916.
20. Colloff MJ, Merrett TG, Merrett J, McSharry C, Boyd G. Feather mites are potentially an important source of allergens for pigeon and budgerigar keepers. *Clin Exp Allergy* 1997;27:60-67.
21. Kilpiö K, Mäkinen-Kiljunen S, Haahtela T, Hannuksela M. Allergy to feathers. *Allergy* 1998;53:159-164.
22. Sanchez J, Diez S, Cardona R. Sensibilización a aeroalergenos en pacientes alérgicos de Medellín, Colombia. *Rev Alerg Méx* 2012;59:139-147.

# Sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción con dos concentraciones del extracto estandarizado de *Culex quinquefasciatus* en niños alérgicos

Raúl L Castro-Almarales<sup>1</sup>, Mirta Álvarez-Castelló<sup>2</sup>, Mercedes Ronquillo-Díaz<sup>2</sup>, José S Rodríguez-Canosa<sup>2</sup>, Mayda González-León<sup>3</sup>, Bárbara I Navarro-Viltre<sup>4</sup>, Daniel Betancourt-Mesia<sup>5</sup>, Irene Enríquez-Domínguez<sup>2</sup>, Mary Carmen Reyes-Zamora<sup>6</sup>, Yunia Oliva-Díaz<sup>1</sup>, Maytee Mateo-Morejón<sup>1</sup>, Alexis Labrada-Rosado<sup>1</sup>

## Resumen

**ANTECEDENTES:** las opciones diagnósticas de las reacciones inmunológicas a la picadura del mosquito son limitadas. En Cuba, las reacciones mediadas por IgE más frecuentes son por picadura de *Culex quinquefasciatus*.

**OBJETIVO:** determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción con dos dosis del extracto estandarizado en unidades de nitrógeno proteico (UNP) de *Culex quinquefasciatus* (BIOCEN, Cuba).

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio analítico efectuado en 100 niños entre 2 y 15 años de edad: 50 pacientes atópicos con antecedentes de alergia a la picadura de mosquito e IgE sérica específica positiva a *Culex quinquefasciatus* y 50 pacientes atópicos sin antecedentes de alergia a la picadura de mosquito e IgE sérica específica negativa a *Culex quinquefasciatus*. La prueba cutánea por punción se realizó por duplicado en los antebrazos de los pacientes. Las dosis investigadas fueron 100 y 10 UNP/mL.

**RESULTADOS:** en la prueba cutánea por punción con el extracto de mayor concentración se obtuvo un tamaño del área del habón de 22.09 mm<sup>2</sup> y con la menor concentración de 8.19 mm<sup>2</sup>; una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.001$ , prueba t de Student). La prueba cutánea positiva se correlacionó en el 100% de los pacientes con la existencia de IgE específica. La prueba con ambas dosis mostró 94% de especificidad y 88% de sensibilidad.

**CONCLUSIÓN:** la alta coincidencia en el resultado de la prueba cutánea nos muestra que puede sustituirse la concentración del extracto a 100 UNP/mL por la de menor concentración, sin perder confiabilidad en el diagnóstico de sensibilización al mosquito *Culex quinquefasciatus*, utilizando ese método *in vivo*.

**PALABRAS CLAVE:** sensibilidad, especificidad, prueba cutánea por punción, *Culex quinquefasciatus*.

<sup>1</sup> Departamento de Alergenos, Centro Nacional de Biopreparados, Dirección de Investigaciones. Facultad de Ciencias Médicas General Calixto García Iñiguez, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Servicio de Alergología, Hospital Universitario General Calixto García, Facultad de Ciencias Médicas General Calixto García Iñiguez, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Policlínico Docente Pedro Fonseca, Punta Brava, La Lisa, La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Policlínico Docente Capdevila, Boyeros, La Habana, Cuba.

<sup>5</sup> Servicio de Alergología, Hospital Héroes del Baire, Nueva Gerona, Isla de la Juventud, Cuba.

<sup>6</sup> Servicio de Alergología, Hospital Policlínico Docente Rosa Elena Simeón, Bejucal, Mayabeque y ISCMPC Victoria de Girón, La Habana, Cuba.

Recibido: 9 de julio 2015

Aceptado: 20 de noviembre 2015

## Correspondencia

Dr. Raúl Lázaro Castro Almarales  
rcaastro@biocen.cu

## Este artículo debe citarse como

Castro-Almarales RL, Álvarez-Castelló M, Ronquillo-Díaz M, Rodríguez-Canosa JS y col. Sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción con dos concentraciones del extracto estandarizado de *Culex quinquefasciatus* en niños alérgicos. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):11-19.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):11-19.

## Sensitivity and specificity of prick skin test with two concentrations of standardized extract of *Culex quinquefasciatus* in allergic children.

Raúl L Castro-Almarales<sup>1</sup>, Mirta Álvarez-Castelló<sup>2</sup>, Mercedes Ronquillo-Díaz<sup>2</sup>, José S Rodríguez-Canosa<sup>2</sup>, Mayda González-León<sup>3</sup>, Bárbara I Navarro-Viltre<sup>4</sup>, Daniel Betancourt-Mesia<sup>5</sup>, Irene Enríquez-Domínguez<sup>2</sup>, Mary Carmen Reyes-Zamora<sup>6</sup>, Yunia Oliva-Díaz<sup>1</sup>, Maytee Mateo-Morejón<sup>1</sup>, Alexis Labrada-Rosado<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Diagnostic options for immune reactions to mosquito bites are limited. In Cuba, IgE-mediated reactions are frequently related to *Culex quinquefasciatus* bite.

**OBJECTIVE:** To determine the sensitivity and specificity of skin prick test with two doses of standardized extract in nitrogen protein units (PNU) of *Culex quinquefasciatus* (BIOCEN, Cuba).

**MATERIAL AND METHOD:** An analytical study was conducted on 100 children between 2 and 15 years old. Fifty atopic patients with a history of allergy to mosquito bite and positive specific serum IgE *Culex quinquefasciatus* and fifty atopic patients without a history of allergy to mosquito bite and negative specific serum IgE to *Culex quinquefasciatus*. Skin prick tests (SPT) were performed by duplicates on the forearms of the patients. Investigated doses were 100 PNU/mL and 10 PNU/mL.

**RESULTS:** SPT with the highest concentration obtained a mean wheal size of 22.09 mm<sup>2</sup> and for lower doses of 8.09 mm<sup>2</sup>, a statistically significant difference ( $p=0.001$ , Student's t test). Positive skin test correlated in 100% of patients with the presence of specific IgE. Testing with both doses showed a 94% of specificity and 88% of sensitivity.

**CONCLUSION:** The diagnostic accuracy of SPT using both doses of standardized extract was similar, which justifies its use for diagnosis of sensitization to *Culex quinquefasciatus* in patients with symptoms of allergy to mosquito bite.

**KEYWORDS:** sensitivity; specificity; skin prick test; *Culex quinquefasciatus*

<sup>1</sup> Departamento de Alergenos, Centro Nacional de Biopreparados, Dirección de Investigaciones. Facultad de Ciencias Médicas General Calixto García Iñiguez, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Servicio de Alergología, Hospital Universitario General Calixto García, Facultad de Ciencias Médicas General Calixto García Iñiguez, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Policlínico Docente Pedro Fonseca, Punta Brava, La Lisa, La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Policlínico Docente Capdevila, Boyeros, La Habana, Cuba.

<sup>5</sup> Servicio de Alergología, Hospital Héroes del Baire, Nueva Gerona, Isla de la Juventud, Cuba.

<sup>6</sup> Servicio de Alergología, Hospital Policlínico Docente Rosa Elena Simeón, Bejucal, Mayabeque y ISCMPC Victoria de Girón, La Habana, Cuba.

### Correspondence

Dr. Raúl Lázaro Castro Almarales  
rcaastro@biocen.cu

### ANTECEDENTES

Existen más de 3,500 especies de mosquitos, de los que *Aedes vexans*, *Aedes aegypti* y *Culex*

*quinquefasciatus* son las especies más comunes en el mundo.<sup>1-4</sup> En Cuba, estas dos últimas especies son las más comunes.<sup>5</sup>

Las reacciones a la picadura de mosquito pueden ser inmunológicas o no inmunológicas.<sup>1</sup> De las reacciones inmunológicas a la picadura del mosquito *Culex quinquefasciatus*, las mediadas por IgE son las más frecuentes.<sup>1</sup> Estas reacciones pueden ser locales, pequeñas o grandes, y sistémicas, con o sin peligro para la vida. Algunos autores consideran que el término alergia a la picadura de mosquito debe reservarse únicamente cuando el paciente tenga reacciones locales grandes, atópicas o sistémicas.<sup>6-8</sup>

El diagnóstico de alergia a la picadura de mosquito se obtiene a través de una anamnesis minuciosa y un examen físico detallado, aunado a la detección *in vivo* o *in vitro* de IgE específica a los alérgenos del mosquito.<sup>1,6,7</sup>

La prueba cutánea por punción es el método menos costoso, más rápido y práctico para detectar hipersensibilidad tipo I a los alérgenos del mosquito. En la actualidad, en todo el mundo se dispone de diferentes extractos de mosquitos para uso diagnóstico por prueba cutánea.<sup>1</sup>

En el Centro Nacional de Biopreparados (BIO-CEN), en Cuba, se produce un extracto del mosquito *Culex quinquefasciatus*, estandarizado a 200,000 unidades de nitrógeno proteico (UNP/mL), pero se desconoce la dosis óptima a administrar para obtener el máximo de sensibilidad y especificidad en adultos y en niños.

El objetivo de este estudio es determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción utilizando dos concentraciones del extracto alérgico estandarizado de *Culex quinquefasciatus*, de producción nacional (BIOCEN, Cuba), en niños alérgicos a la picadura de este mosquito.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio analítico, controlado y prospectivo para validar la prueba cutánea por punción utilizando

dos dosis del extracto del mosquito *Culex quinquefasciatus*. Se realizó en 100 sujetos (grupo A: 50 pacientes atópicos con antecedentes de alergia a la picadura de mosquito e IgE sérica específica positiva a *Culex quinquefasciatus* y grupo B: 50 pacientes atópicos sin antecedentes de alergia a la picadura de mosquito e IgE sérica específica negativa a *Culex quinquefasciatus*), entre 2 y 15 años de edad que acudieron consecutivamente a la consulta de Alergología del Hospital Universitario General Calixto García y tres consultorios del médico familiar del Guatao, perteneciente al Policlínico Docente Pedro Fonseca, La Lisa, La Habana, en el periodo de marzo de 2011 a marzo de 2012. Se ocultaron los resultados cuantitativos de las determinaciones séricas de IgE específica al mosquito *Culex quinquefasciatus*, registrándose el dato después de realizada la prueba cutánea por punción. Los investigadores del laboratorio de BIOCEN hicieron una lista de todos los pacientes a realizarse la prueba cutánea por punción. Este proceso se realizó en el Departamento de Alérgenos de BIOCEN por personal ajeno al estudio. Este listado fue abierto al finalizar el ensayo para asignar a los pacientes a su respectivo grupo.

### Prueba cutánea por punción

A todos los pacientes incluidos se les realizó la prueba cutánea por punción por duplicado en ambos antebrazos con las dos concentraciones (100 y 10 UNP/mL) del extracto alérgico del mosquito *Culex quinquefasciatus*, a 200,000 UNP/mL. En conjunto, se utilizaron dos controles: negativo (solución diluyente de extractos alérgicos [VALERGEN]: solución tampón-fosfato que contiene fenol 0.4% y albúmina sérica humana 0.03%) y positivo (solución de histamina HCl, 10 mg/mL). La prueba cutánea por punción se realizó según los procedimientos descritos por Dreborg.<sup>9</sup> La prueba se consideró positiva cuando se obtuvo un diámetro medio de habón igual o mayor a 3 mm con el extracto alérgico

y negativa cuando el diámetro medio del habón fue menor de 3 mm. Para considerar válida la prueba, el diámetro medio del habón producido por la histamina debía ser igual o mayor a 3 mm y por el control negativo menor a 3 mm.<sup>10</sup>

El tamaño medio (área) de la reacción fue la variable primaria. La misma se calculó mediante la siguiente expresión:

$$A = \pi d^2/4$$

Donde d es el diámetro promedio del habón calculado según se describió.

Todos los pacientes permanecieron 30 minutos en la consulta después de realizada la prueba cutánea, de acuerdo con lo establecido en el protocolo.

#### Procesamiento de la sangre y obtención del suero

Para la obtención del suero se extrajeron 10 mL de sangre dos semanas antes de realizar la prueba cutánea por punción, se colectaron en tubos Corning de 10 mL, identificados con el número de inclusión del paciente y se enviaron al Departamento de Alergenos de BIOECN para su procesamiento y análisis. El suero se separó mediante centrifugación a 6,000 rpm durante 10 min y se conservó a -20°C hasta su análisis.

#### Determinación de la IgE específica

Para la determinación del título de IgE alérgeno-específico se utilizó un ensayo ELISA indirecto validado por el BIOECN para la producción de extractos alérgicos, con antígeno fijado a la fase sólida. Se usaron placas MaxiSorp (Nunc) de 96 pozos recubiertas durante toda la noche a 4°C con 100 µL del extracto alérgico de *Culex quinquefasciatus*, disueltos en tampón de recu-

brimiento (carbonato 0.034 mol/L-bicarbonato 0.015 mol/L, pH 9.6). Los resultados cuantitativos de la determinación sérica de IgE específica al mosquito no se registraron hasta después de realizada la prueba cutánea por los investigadores clínicos.

#### Indicadores evaluados para caracterizar el ensayo

La eficacia de la prueba se midió por los valores de sensibilidad, especificidad, eficiencia y valores predictivos del resultado positivo y negativo, respectivamente. Para el cálculo de estos valores se usaron las siguientes definiciones:<sup>11</sup>

*Verdadero positivo (VP)*: pacientes atópicos con antecedentes de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica e IgE sérica específica positiva a *Culex quinquefasciatus*, con prueba cutánea por punción positiva.

*Falso negativo (FN)*: pacientes atópicos con antecedentes de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica e IgE sérica específica positiva a *Culex quinquefasciatus*, con prueba cutánea por punción negativa.

*Verdadero negativo (VN)*: pacientes atópicos sin antecedentes de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica e IgE sérica específica negativa *Culex quinquefasciatus*, con prueba cutánea por punción negativa.

*Falso positivo (FP)*: pacientes atópicos sin antecedentes de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica e IgE sérica específica negativa *Culex quinquefasciatus*, con prueba cutánea por punción positiva.

*Sensibilidad (S)*: porcentaje de verdaderos positivos del total de personas enfermas.

$$S = VP/(VP + FN) \times 100$$



*Especificidad (E)*: porcentaje de verdaderos negativos del total de personas no enfermas.

$$E = VN/(FP + VN) \times 100$$

*Valor predictivo del resultado positivo (VP+)*: porcentaje de personas enfermas del total de personas con resultados positivos.

$$VP+ = VP/(VP + FP) \times 100$$

*Valor predictivo del resultado negativo (VP-)*: porcentaje de personas no enfermas del total de personas con resultados negativos.

$$VP- = VN/(VN + FN) \times 100$$

*Eficiencia (Ef)*: porcentaje del total de resultados verdaderos, ya sean positivos o negativos.

$$Ef = VP + VN/(VP + VN + FP + FN) \times 100$$

Los cálculos del tamaño muestral se realizaron con la ayuda del paquete de programas para el diseño de experimentos Glaxo-Wellcome C4-SDP v1.1. El estadígrafo seleccionado para comparar la respuesta en ambos grupos, así como en relación con los controles fue la mediana y la media geométrica del logaritmo del área del habón, porque experiencias previas demostraron que la transformación logarítmica de los datos iniciales (área) se ajusta mucho mejor a una distribución normal. Al aceptar la normalidad de la distribución de la variable primaria en la población a estudiar, el error en determinar la sensibilidad o la especificidad con un error  $\epsilon$  dado puede estimarse con la siguiente expresión:

$$n = (K\alpha s/\epsilon)^2$$

donde  $K\alpha$  es el factor de confianza para un nivel de confianza  $\alpha$  y  $s$  es la desviación estándar ( $s = [p(1-p)]^{1/2}$ ). Se estimó que los valores de sensibilidad y especificidad se encontrarían entre 85 y

90%. Entonces, para  $\alpha=0.05$  y  $\epsilon=10\%$  (es decir, un intervalo de 95% de confianza igual a  $\pm 10\%$  del valor determinado), obtuvimos un valor de  $n$  entre 35 y 49 sujetos. Al tomar en cuenta estas consideraciones, se seleccionaron 50 pacientes para cada grupo de estudio.

### **Análisis estadístico de los resultados**

Se evaluó la distribución estadística de cada variable para probar su ajuste a la normalidad mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks. Por tanto, para la variable reactividad cutánea que se ajustó a la normalidad se calculó la media geométrica y la mediana del área del habón, así como sus respectivos intervalos de confianza de 95% y se compararon las medias geométricas para los diferentes productos mediante una prueba  $t$  de Student de muestras pareadas, con nivel de significación  $\alpha$  menor a 0.05. Se determinó el grado de correlación de Spearman del tamaño de la reacción entre diferentes productos, incluyendo los resultados de todos los pacientes alérgicos. Se calcularon los intervalos de confianza de 95% (IC95%) de los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos y eficiencia con la expresión:

$$IC95\% = \pm 1.96 [V(1-V)/n]^{1/2}$$

Donde  $V$  es el valor correspondiente de cada parámetro.

Para las variables demográficas y clínicas (edad, sexo, enfermedad registrada) que no se ajustaron a una distribución normal se utilizó la mediana y sus IC95% en cada grupo; las comparaciones entre los grupos se realizaron con la prueba  $U$  de Mann-Whitney.

El procesamiento de los datos se realizó mediante las funciones estadísticas del programa Microsoft Excel v7.0 y el paquete estadístico Statistica v4.0.

**Consideraciones éticas**

El protocolo lo analizó y aprobó el Comité de Ética del Hospital Universitario General Calixto García. Se justificó la inclusión de pacientes atópicos sin antecedentes de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica con IgE sérica específica negativa para poder determinar la especificidad. No se realizaron pruebas de provocación a la picadura como patrón de referencia, lo que constituye una limitación de nuestro estudio; aunque, como otros autores, se utilizó el antecedente de alergia a la picadura de mosquito por historia clínica y la determinación de IgE sérica.<sup>1,6-8</sup> Se obtuvo el consentimiento por escrito de los padres o tutores de los pacientes, previa información de las particularidades y riesgos del estudio. Además, se obtuvo el consentimiento de los pacientes incluidos mayores de ocho años.

**RESULTADOS**

En el grupo de pacientes alérgicos con IgE sérica específica positiva a *Culex quinquefasciatus* (grupo A), 15 pacientes fueron del sexo masculino y 35 del femenino; en el grupo de alérgicos con IgE sérica específica negativa a *Culex quinquefasciatus* (grupo B), 14 eran varones y 36 mujeres. En el grupo A, la mediana de la edad fue 7.4 años, mientras en el grupo B fue 7.7 años. Las diferencias de estos parámetros entre los dos grupos no fueron estadísticamente significativas (p mayor de 0.05). Cuadro 1

En el grupo A, de 50 individuos, 44 mostraron respuestas cutáneas positivas con ambas concentraciones del extracto de *Culex quinquefasciatus*. Se obtuvieron respuestas cutáneas negativas en seis pacientes para las dos concentraciones investigadas.

En el grupo B, la mayoría de los pacientes mostró resultados cutáneos negativos para las dos

**Cuadro 1.** Características demográficas de los pacientes incluidos

	Grupo A n=50	Grupo B n=50	p (U de Mann-Whitney)
Sexo (M/F)	35/15	36/14	0.84
Mediana de edad (años)	7.4	7.7	0.92
Intervalo (IC 95%)	2-15	2-15	

concentraciones del extracto de *Culex quinquefasciatus* (Cuadro 2). Se observó 100% de coincidencia en el diagnóstico entre las dos concentraciones investigadas (p menor de 0.001).

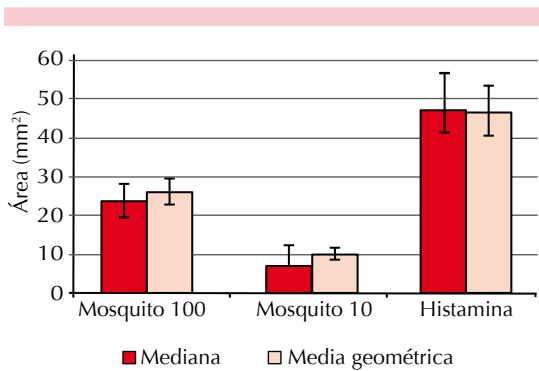
En la prueba cutánea por punción con el extracto de mosquito a 100 UNP/mL se registró una media geométrica del área del habón en los pacientes positivos del grupo A de 22.09 mm<sup>2</sup> (IC 95%: 23.05-29.54), mientras con la concentración a 10 UNP/mL fue de 8.19 mm<sup>2</sup> (IC 95%: 11.78-8.82). Figura 1

La diferencia observada fue estadísticamente significativa (p menor de 0.05). En relación con el habón producido por la histamina, las reacciones hacia las dos concentraciones fueron menores, la diferencia fue significativa (p menor de 0.001).

Para las dos concentraciones del extracto alérgico de *Culex quinquefasciatus* se obtuvo 88% de sensibilidad, 94% de especificidad y 91% de eficiencia en la prueba cutánea por punción. Además, el valor predictivo del resultado positivo fue de 94% y el del resultado negativo fue de

**Cuadro 2.** Resultados de la prueba por punción en ambos grupos de estudio con las diferentes dosis

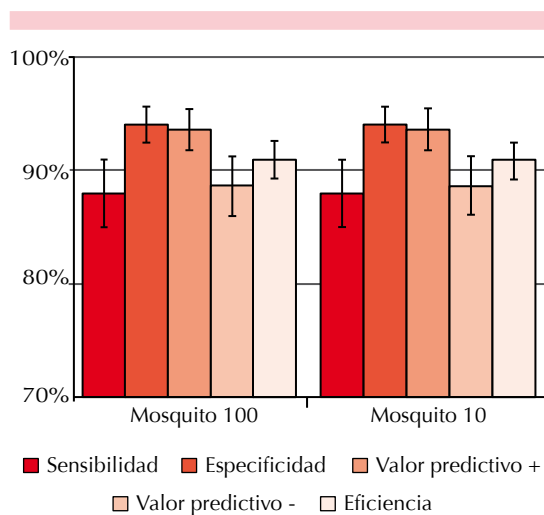
Pacientes	Mosquito 100		Mosquito 10	
	Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Alérgicos	44	6	44	6
No alérgicos	3	47	3	47
Total	47	53	47	53



**Figura 1.** Mediana y media geométrica del área del habón (en mm<sup>2</sup>) en los pacientes positivos del grupo de alérgicos con IgE positiva para los diferentes productos utilizados.

89% para ambas concentraciones investigadas (Figura 2). Estos valores resultaron superiores a los declarados inicialmente como aceptables en el protocolo.

En el transcurso del estudio no se produjeron eventos adversos.



**Figura 2.** Resultados de las variables de eficacia.

## DISCUSIÓN

En este estudio se obtuvo homogeneidad entre ambos grupos investigados, en relación con la edad y sexo. La preponderancia del sexo femenino concuerda con otros autores, que reportaron esta característica en estudios en los que se realizaron pruebas cutáneas por punción.<sup>12,13</sup> La muestra poblacional es representativa de la población alérgica cubana, lo que permitiría la extensión de los resultados.

La diferencia encontrada en cuanto al tamaño de la reacción cutánea hacia las dos concentraciones coincide con lo reportado por otros autores.<sup>2,14,15</sup> De manera inusitada hubo una coincidencia total entre los resultados cutáneos considerados positivos y negativos en ambos grupos para las dos concentraciones del extracto de *Culex quinquefasciatus*. El porcentaje de positividad en el grupo de pacientes alérgicos fue superior a 90%; sin embargo, otros autores reportaron que las respuestas positivas se registran en 32%.<sup>2,14,15</sup> En esta investigación, la alta coincidencia en el resultado de la prueba cutánea nos muestra que la concentración del extracto a 100 UNP/mL puede sustituirse por la de menor concentración sin perder confiabilidad en el diagnóstico de sensibilización al mosquito *Culex quinquefasciatus* al usar ese método *in vivo*.

Si bien encontramos alta coincidencia en los resultados positivos entre las dos concentraciones investigadas, la de mayor concentración provocó reacciones de mayor tamaño en los pacientes alérgicos del grupo A que la de menor concentración. Esta diferencia podría considerarse una ventaja de la dosis mayor, porque indica mayor potencia alérgica y, por tanto, mayor sensibilidad potencial del diagnóstico. Otros autores expresan que a mayor potencia y concentración alérgica del extracto, su capacidad de detectar individuos sensibles es mayor.<sup>10,16-18</sup>

Los parámetros de eficacia para las dos concentraciones del extracto de *Culex quinquefasciatus* fueron mayores que los reportados (16 a 42%) en otros estudios,<sup>6-8</sup> lo que pudiera deberse al método diagnóstico seleccionado como referencia, que en este caso es el diagnóstico clínico basado en la aparición de síntomas relacionados con la picadura de mosquito y la determinación de IgE sérica específica a *Culex quinquefasciatus*. En Cuba, éste es el primer reporte de la sensibilidad y especificidad de dos concentraciones de un extracto del mosquito *Culex quinquefasciatus*. Los resultados permiten aseverar que la prueba cutánea por punción realizada con las dos concentraciones tiene sensibilidad y especificidad altas.

En el ensayo no se reportaron eventos adversos, lo que evidencia la seguridad de las concentraciones investigadas y de la prueba cutánea por punción, lo que coincide con reportes anteriores, que describen la ocurrencia de estos eventos como sumamente poco frecuentes en la prueba cutánea por punción.<sup>19,20</sup> De modo que la evaluación de su frecuencia es posible solamente en estudios poscomercialización.<sup>10</sup> Como reportaron otros autores, la prueba cutánea por punción es la prueba *in vivo* que ofrece menor riesgo para el paciente; es decir, la prueba cutánea por punción es muy segura y rara vez induce reacciones alérgicas sistémicas.<sup>9,10,19-21</sup>

## CONCLUSIÓN

La prueba cutánea por punción con las concentraciones investigadas es eficaz, sensible y segura como herramienta diagnóstica de la alergia a la picadura del mosquito *Culex quinquefasciatus*. La alta coincidencia en el resultado de la prueba cutánea demuestra que la concentración del extracto a 100 UNP/mL puede sustituirse por la de menor concentración sin perder confiabilidad en el diagnóstico de sensibilización al mosquito *Culex quinquefasciatus* al utilizar ese método *in vivo* en los servicios de Alergología en Cuba.

## Agradecimientos

El estudio en el que se basa este artículo lo financió en su totalidad el Centro de Biopreparados, entidad gubernamental de investigación-desarrollo de Cuba.

## REFERENCIAS

1. Crisp HC, Johnson KJ. Mosquito allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;110:65-69.
2. Tulle MA. Mosquito-borne diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2009;39:97-140.
3. Becker N, Petric D, Zgomba M, et al. Mosquitoes and their control. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Springer, 2010.
4. McKnight S. What are the primary nuisance mosquitoes of North America? *Wing Beats* 2005;16:30-32.
5. Marquetti MC, Valdés V, Aguilera L, Navarro A. Vigilancia entomológica de *Aedes (S) aegypti* y otros culicidos en Ciudad de La Habana, Cuba 1991-1996. *Rev Cubana Med Trop* 2000;52: 133-137.
6. Peng Z, Simons FER. Mosquito allergy and mosquito salivary allergens. *Protein Pept Lett* 2007;14:975-981.
7. Asada H. Hypersensitivity to mosquito bites: a unique pathogenic mechanism linking Epstein-Barr virus infection, allergy and oncogenesis. *J Dermatol Sci* 2007;45:153-160.
8. Manrique MA, Gonzalez SN, Arias A, et al. Efficacy of immunotherapy with allergenic extract of *Aedes aegypti* in the treatment of large local reaction to mosquito bites in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011;107:A106.
9. Dreborg S, Frew A. Position paper: Allergen standardization and skin tests. *Allergy* 1993;48(Suppl. 14):49-82.
10. Demoly P, Pritte V, Bousquet J. *In vivo* methods for study of allergy: skin tests, techniques, and interpretation. In: Middleton E, Reed C, Ellis E, Adkinson N, Yunginger J, Busse W, editors. *Allergy, Principles and Practice*. 6<sup>th</sup> ed. St Louis (Mo): Mosby Co., 2003;631-643.
11. Castro RL, Rodríguez J, Ronquillo M, Álvarez M y col. Sensibilidad y especificidad de la prueba cutánea por punción con extractos alergénicos estandarizados de *Dermatophagoides pteronyssinus* en adultos. *Vaccinmonitor* 2013;22:24-29.
12. Ferrándiz R, Casas R, Dreborg S. Sensitization to *Dermatophagoides siboney*, *Blomia tropicalis*, and other domestic mites in asthmatic patients. *Allergy* 1996;51:501-505.
13. Castro ARL, Álvarez CM, Ronquillo DM, Rodríguez CJS, et al. Sensibilización a tres especies de ácaros en pacientes alérgicos de la zona costera de la ciudad de La Habana. *Revista Alergia México* 2009;56:31-35.
14. Peng Z, Simons FER. Comparison of proteins, IgE, and IgG binding antigens, and skin reactivity in commercial and laboratory-made mosquito extracts. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;77:371-376.

15. Peng Z, Xu W, James AA, et al. Expression, purification, characterization and clinical relevance of rAed a 1da 68-kDa recombinant mosquito *Aedes aegypti* salivary allergen. *Int Immunol* 2001;13:1445-1452.
16. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2012;67:18-24.
17. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;100:S1-S148.
18. Choi IS, Koh YI, Koh JS, Lee MG. Sensitivity of the skin prick test and specificity of the serum-specific IgE test for airway responsiveness to house dust mites in asthma. *J Asthma* 2005;42:197-202.
19. Norrman G, Falth-Magnusson K. Adverse reactions to skin prick testing in children prevalence and possible risk factors. *Pediatr Allergy Immunol* 2009;20:273-278.
20. Liccardi G, D'Amato G, Canonica GW, Salzillo A, et al. Systemic reactions from skin testing: literature review. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006;16:75-78.
21. Bernstein DI, Wanner M, Borish L, Liss GM. Twelve-year survey of fatal reactions to allergen injections and skin testing: 1990-2001. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1129-1136.

## Inmunoglobulina E total como marcador de alergia en el noroeste de México

Francisca Ramírez-Enríquez<sup>1</sup>, Jesús Prado-Rendón<sup>1</sup>, Jesús Lachica-Valle<sup>1</sup>, Jaime Valle-Leal<sup>2</sup>

### Resumen

**ANTECEDENTES:** la relación entre IgE total en suero y alergia se ha estudiado para determinar si puede ser un complemento útil para el diagnóstico de alergia.

**OBJETIVO:** conocer si la IgE sérica total es una herramienta útil en el diagnóstico de alergia en la población pediátrica que acude a la consulta externa de Alergología pediátrica del Hospital General Regional 1, Ciudad Obregón, Sonora.

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio epidemiológico, observacional, retrospectivo, transversal y analítico de prueba diagnóstica, en el que se revisaron los expedientes de niños entre 3 y 16 años de edad, atendidos en el servicio de Alergología pediátrica. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 22 y por medio de una tabla tetracórica se determinó la sensibilidad y especificidad de IgE para el diagnóstico de alergias; se tomaron pruebas cutáneas como patrón de referencia para el diagnóstico de alergias. Se determinó el valor de p entre las variables de estudio con la prueba t de Student.

**RESULTADOS:** se estudiaron 248 expedientes, el género masculino fue más frecuente (59%). La sensibilidad de IgE fue de 85% y la especificidad de 20%; el punto de corte encontrado fue de 148 UI/mL, concentraciones elevadas de IgE en pruebas cutáneas para aeroalergenos y existencia de síntomas respiratorios.

**CONCLUSIONES:** la determinación de IgE es una prueba útil de tamizaje inicial en pacientes con sospecha de alergia.

**PALABRAS CLAVE:** IgE sérica total, atopia, pruebas cutáneas.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):20-25.

## Total immunoglobulin E as marker of allergy at Northeast of Mexico.

Francisca Ramírez-Enríquez<sup>1</sup>, Jesús Prado-Rendón<sup>1</sup>, Jesús Lachica-Valle<sup>1</sup>, Jaime Valle-Leal<sup>2</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Relationship of total serum IgE and allergy has been studied to determine if it could be a useful complement allergy diagnosis.

**OBJECTIVE:** To determine whether serum total IgE is a useful tool in diagnosis of allergy in pediatric population attending outpatient

<sup>1</sup> Servicio de Pediatría.

<sup>2</sup> Departamento de Enseñanza e Investigación. Hospital General Regional 1, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad Obregón, Sonora, México.

Recibido: 8 de septiembre 2015

Aceptado: 10 de noviembre 2015

### Correspondencia

Dr. Jaime Valle Leal  
valle\_jaime1@hotmail.com

### Este artículo debe citarse como

Ramírez-Enríquez F, Prado-Rendón J, Lachica-Valle J, Valle-Leal J. Inmunoglobulina E total como marcador de alergia en el noroeste de México. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):20-25.

pediatric allergy Regional General Hospital No. 1, Ciudad Obregón, Sonora, Mexico.

**MATERIAL AND METHOD:** An epidemiological, observational, retrospective, transversal and analytical study of diagnostic test was done including files of children 3-15 years 11 months old, treated in pediatric allergy. For statistical analysis SPSS V-22 was used and through tetrachoric table, sensitivity, specificity of IgE for allergy diagnosis were determined, taking skin tests as a gold standard for diagnosing allergies; p value between the study variables was determined using Student t test.

**RESULTS:** 248 records were studied; male gender was more frequent (59%). IgE sensitivity was 85% and specificity was 20%, cutoff point found was 148 IU/mL, elevated levels of IgE in skin tests to airborne allergens and presence of respiratory symptoms.

**CONCLUSIONS:** IgE determination is a useful initial screening test in patients with suspected allergy.

**KEYWORDS:** total serum IgE; atopy; skin tests

<sup>1</sup> Servicio de Pediatría.

<sup>2</sup> Departamento de Enseñanza e Investigación.

Hospital General Regional 1, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad Obregón, Sonora, México.

#### Correspondence

Dr. Jaime Valle Leal

valle\_jaime1@hotmail.com

## ANTECEDENTES

Las enfermedades alérgicas constituyen un grupo de padecimientos frecuentes que incluyen: asma, rinoconjuntivitis alérgica, dermatitis atópica y alergia a los alimentos.<sup>1</sup> El aumento de estas enfermedades está condicionado por los cambios climáticos, la industrialización y cambios en el entorno del hogar.<sup>2</sup> La alergia es un proceso mediado por la inmunoglobulina E, que es parte fundamental en la fisiopatología del proceso alérgico.<sup>3</sup> Como prueba diagnóstica, la IgE identifica sujetos atópicos y no atópicos; la sensibilización alérgica se establece con la determinación de IgE específica y pruebas cutáneas; sin embargo, su costo es más elevado y tiene indicaciones precisas.<sup>4</sup>

Los estudios de diversos grupos étnicos han demostrado una asociación entre la prevalencia de diferentes alergias y concentraciones elevadas de IgE sérica total independientes de reactividad específica a las alergias o síntomas de las alergias comunes.<sup>5,6</sup> La población de estudio está expuesta a gran cantidad de alérgenos y

las manifestaciones implican visitas frecuentes a urgencias y estancia hospitalaria prolongada.

El objetivo de este trabajo es conocer si la IgE sérica total es una herramienta útil en el diagnóstico de alergia en la población pediátrica del noroeste de México y si permite discernir entre pacientes con enfermedad alérgica y sanos, para establecer un diagnóstico oportuno, tratamiento adecuado y evitar complicaciones.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio epidemiológico, retrospectivo, transversal, analítico, realizado previa autorización por el Comité de ética e investigación local R-2015-2601-40, bajo el diseño de evaluación de una prueba diagnóstica, con la finalidad de determinar la sensibilidad y especificidad de la inmunoglobulina E (IgE) sérica total para el diagnóstico de alergia en pacientes pediátricos atendidos en el Hospital General Regional 1 del IMSS, en Ciudad Obregón, Sonora, del 1 de mayo de 2014 al 30 de junio de 2015.

Se incluyeron los expedientes de pacientes que acudieron al servicio de consulta externa de Alergología con sospecha de enfermedad alérgica, género indistinto, entre 3 y 16 años de edad, con resultados de determinación de IgE sérica total y en quienes se realizaron pruebas cutáneas. El muestreo se hizo en dos etapas: por censo (no probabilístico) en una primera etapa, en la que se enlistaron y se tomó registro de todos los pacientes con alergia, y en una segunda etapa, por una elección probabilística al incluir sólo los expedientes con números noes hasta completar 248 expedientes.

Se excluyeron los expedientes con pruebas cutáneas sin reacción a histamina y pruebas cutáneas de control posterior a tratamiento con inmunoterapia. Ningún expediente se eliminó del estudio.

En un formato especial diseñado para este proyecto se registraron las variables: género, edad, resultado de IgE sérica total, representado como positivo mayor de 15 U en el primer año, mayor de 60 de 1 a 5 años, mayor de 90 de 6 a 9 años, mayor de 200 de 10 a 15 años) o negativo (menor de 15 U en el primer año, menor de 60 de 1 a 5 años, menor de 90 de 6 a 9 años, menor de 200 de 10 a 15 años), al tomar como referencia los valores establecidos por el laboratorio del instituto. La IgE se determinó mediante método de inmunofluorescencia indirecta; los resultados de las pruebas cutáneas (patrón de referencia para el diagnóstico de alergia) se consideraron positivos cuando la reacción dérmica fue mayor de 3 mm o negativos cuando la reacción dérmica fue menor de 3 mm. La técnica se realizó aplicando una gota de extracto alergénico glicerinado, peso volumen (Allergomex) sobre la piel de los antebrazos o de la espalda del paciente. El tipo de alérgeno se seleccionó de acuerdo con los prevalentes en cada región geográfica. Los alérgenos utilizados se agruparon en cuatro categorías: aeroalérgenos, polvo doméstico,

alimentos y animales (perro, gato). También se registraron las manifestaciones clínicas iniciales que se catalogaron como respiratorias cuando los pacientes tuvieran rinitis, sinusitis, hipereactividad bronquial; síntomas cutáneos ante la existencia de pápulas, exantema, eritema y prurito; gastrointestinales, manifestados por diarrea, estreñimiento, borborismos o flatulencia, y anafilaxia como respuesta potencialmente mortal desencadenada por alérgenos.

Los resultados se capturaron en Excel versión 2010 y se analizaron en el programa estadístico SPSS versión 22 para Windows. Con una tabla tetracórica se determinó la sensibilidad y especificidad de la IgE para el diagnóstico de alergias. Para la evaluación de la eficiencia diagnóstica de la IgE sérica total se utilizó el teorema de Bayes (sensibilidad, especificidad); finalmente se correlacionaron las concentraciones de IgE sérica y las manifestaciones clínicas de alergia, así como las concentraciones séricas de IgE y las pruebas cutáneas. El valor de p mediante la prueba t de Student, con IC de 95%, se consideró con significación cuando fue igual o menor a 0.05.

## RESULTADOS

Se estudiaron 248 expedientes de pacientes atendidos en la consulta externa de Alergología pediátrica con sospecha de enfermedad alérgica, con edades entre 3 y 16 años, en el Hospital General Regional 1 del IMSS en Ciudad Obregón, Sonora, en el periodo comprendido del 1 de mayo de 2014 al 30 de junio de 2015. En el grupo estudiado, 146 pacientes (59%) pertenecían al género masculino, con relación masculino:femenino de 1.4:1. La edad promedio fue de  $8.3 \pm 3.4$  años. La prevalencia de sospecha de enfermedad alérgica fue mayor en la edad escolar y en el género masculino (Cuadro 1).

La sensibilidad de la IgE como prueba diagnóstica fue de 85% y la especificidad de 20%;



**Cuadro 1.** Características de la población estudiada. N=248

Característica	Frecuencia (%)
<b>Edad (años)</b>	
3 a 5	67 (27)
6 a 11	131 (53)
12 a 16	50 (20)
<b>Género</b>	
Femenino	102 (41)
Masculino	146 (59)

la sensibilidad más alta encontrada fue para alimentos, seguida por animales, aeroalergenos y polvo doméstico. La mayor especificidad fue para alimentos; se observó una proporción similar para el resto de los alérgenos (Cuadro 2).

El valor de la IgE sérica total fue mayor en los pacientes que tuvieron manifestaciones respiratorias y cutáneas; esta diferencia fue estadísticamente significativa, contrario a lo encontrado en las manifestaciones gastrointestinales (Cuadro 3).

Nuestro estudio muestra que las concentraciones séricas de IgE elevadas fueron mayores en pacientes con pruebas cutáneas positivas en general y en pruebas cutáneas positivas para aeroalergenos; estas asociaciones mostraron significación estadística; en sentido opuesto, los alérgenos del polvo doméstico, animales y alimentos no mostraron significación estadística. Ningún paciente tuvo reacción de anafilaxia durante la realización de las pruebas (Cuadro 4).

El 58% (n=143) de las pruebas cutáneas fueron positivas; la existencia de IgE elevada y pruebas

**Cuadro 3.** IgE sérica total y tipo de manifestaciones clínicas

Síntomas	IgE (UI/mL)	p*	IC 95%
<b>Respiratorios</b>			
Presentes	1,073±2,057	0.001**	(-1,089-20.3)
Ausentes	538.7±668		
<b>Gastrointestinales</b>			
Presentes	354±371.1	0.57	(-813-388)
Ausentes	557±744		
<b>Cutáneos</b>			
Presentes	1,345±1,792	0.001**	(305-1,331)
Ausentes	526±668		

\*p: t de Student. \*\* estadísticamente significativos.

**Cuadro 4.** Concentraciones séricas de IgE y pruebas cutáneas

Pruebas cutáneas	IgE (UI/mL)	p	IC 95%
Positivas	687±880	0.001*	(184-500)
Negativas	396±416		
<b>A aeroalergenos</b>			
Positivas	759±896	0.001*	(143-510)
Negativas	429±592		
<b>A polvo doméstico</b>			
Positivas	693.4±941	0.015*	(-26 -399)
Negativas	506.9±654		
<b>A alimentos</b>			
Positivas	878±729	0.42	(-54 -830)
Negativas	540±736		
<b>A animales</b>			
Positivas	623±467	0.45	(-222 -380)
Negativas	544±763		

reactivas para aeroalergenos se encontró en 82 casos, para polvo en 53, animales en 24 y alimentos en 9.

Respecto de los pacientes que tuvieron concentraciones elevadas de IgE con manifestaciones

**Cuadro 2.** Sensibilidad y especificidad de IgE sérica total para el diagnóstico de alergias (pruebas cutáneas positivas como patrón de referencia). N=248

Parámetro evaluado	General	Aeroalergenos	Polvo	Animales	Alimentos
Sensibilidad	85	88	86	92	100
Especificidad	20	17	16	16	25

Las cifras representan porcentajes.

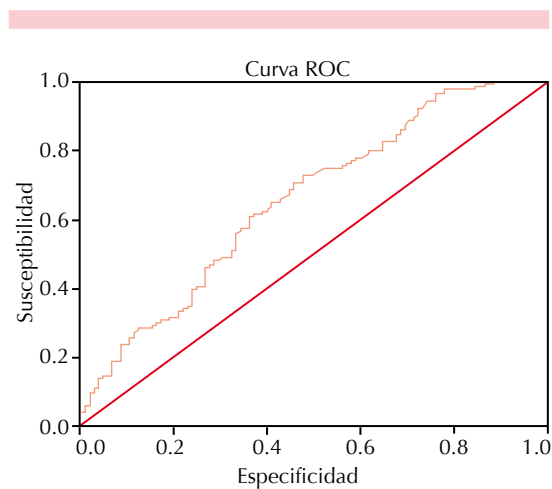
respiratorias fueron 206 casos, para síntomas cutáneos 6 y gastrointestinales, 3.

Se encontró una concentración promedio de IgE sérica total de  $552 \pm 737.5$  UI/mL, con límites de 5 y 5,550 UI/mL. A partir de 400 UI/mL la sensibilidad de la prueba aumenta, con valores mayores de 1,600 UI/mL la sensibilidad se acerca al 100%.

Se generó una curva ROC para determinar la sensibilidad y especificidad de la IgE total con la finalidad de encontrar el mejor punto de corte que discrimine el diagnóstico de enfermedad alérgica. La combinación más alta de sensibilidad y especificidad se observó con un corte de 143 UI. En curva ROC área bajo la curva de 0.657, con IC 95% 0.589-0.726 (Figura 1).

**DISCUSIÓN**

Debido a las características geográficas y climatológicas particulares del noroeste de México, éste tiene gran diversidad de alergenios, que



**Figura 1.** Curva de ROC de la efectividad de IgE sérica total como prueba de tamizaje para pacientes con sospecha de alergias.

condicionan sensibilización de la población pediátrica desde etapas muy tempranas de su crecimiento y desarrollo.

Este estudio incluyó síntomas respiratorios, cutáneos y gastrointestinales. Los hallazgos demuestran mayor prevalencia de síntomas respiratorios. La diseminación de los alergenios por vía aérea es más amplia y persistente, lo que explica su mayor prevalencia,<sup>3</sup> los demás son menos frecuentes, pero de manifestación más insidiosa y su diagnóstico es por exclusión.<sup>7,8</sup>

El valor de referencia establecido para IgE total proporciona sensibilidad de 85%, detecta las posibles sensibilidades hacia alergenios; asimismo, la especificidad diagnóstica calculada en este estudio fue de tan sólo 20%, lo que es significativamente bajo y pareciera indicar que la utilización de la IgE sérica total por sí misma no es específica en aproximadamente 80% de los casos.

La IgE tiene alta sensibilidad para detectar sensibilización a aeroalergenios en nuestro medio; estos hallazgos apoyan lo encontrado por Tlachi-Corona y su grupo en 2014.<sup>3</sup>

El grupo etario con mayor elevación de IgE fue el de escolares, con concentraciones mayores de 400 UI/mL, debido a la exposición y sensibilización a alergenios. Con base en nuestro estudio se define el valor de referencia de las concentraciones de IgE total en los niños del noroeste de México, que es independiente del sexo y de la edad; estos hallazgos apoyan la concentración de IgE para discriminar niños con enfermedad alérgica y sin alergia, con un punto óptimo de corte de 143 UI, el doble de lo reportado por Tu en 2013<sup>8</sup> en población asiática (77.7 UI).

Con concentraciones elevadas de IgE la posibilidad de tener pruebas cutáneas positivas se incrementa y, por el contrario, con concentracio-

nes bajas de inmunoglobulina E la probabilidad de resultados negativos es mayor.

Este estudio proporciona información valiosa acerca de los patrones de sensibilización; sin embargo, se necesitan más investigaciones al respecto para comprender las complejas relaciones entre las exposiciones a alérgenos y la aparición de la sensibilización alérgica y la enfermedad.

La IgE en el medio hospitalario continúa siendo un método útil de escrutinio para los pacientes con síntomas respiratorios crónicos, pero no es definitiva porque su especificidad es baja. Sin embargo, como prueba para realizar tamizaje es útil, si se cuenta con ella; el costo es bajo y orienta hacia la toma de decisiones y derivación oportuna.

Algunas limitantes de este estudio fueron el acopio de datos de manera retrospectiva, que limita explorar otros posibles resultados al considerar otros factores, como época del año en que se mida la IgE y se realicen las pruebas cutáneas, así como la clasificación ambigua de los síntomas respiratorios.

## CONCLUSIÓN

La prueba de IgE total en plasma es una herramienta útil de tamizaje inicial en pacientes con sospecha de alergia, cuando sus síntomas principales son respiratorios; la asociación entre pruebas cutáneas positivas y concentraciones elevadas de IgE tuvo significación estadística.

## REFERENCIAS

1. Granada M, Wilk JB, Tuzona M, Strachan DP, et al. A genome wide association study of plasma total IgE concentration in the Framingham heart study. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:840-845. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3293994>.
2. Sun BQ, Chen DH, Zheng PY, Huang HM, et al. Allergy-related evidences in relation to serum IgE: data from the China state key laboratory of respiratory disease, 2008-2013. *Biomed Environ Sci* 2011;27:495-505. Disponible en: <http://www.besjournal.com/Articles/Archive/2014/No7/201407/P020140729371537264977.pdf>
3. Tlachi-Corona L, Caballero-López CG, López-García AI, Papaqui-Tapia S, et al. Correlación entre la magnitud de la reactividad cutánea por punción y las concentraciones de IgE sérica específica a pólenes en pacientes con alergia respiratoria. *Rev Alergia Mex* 2014;61:3-8.
4. Larenas-Linnemann D, Ortega-Martell J, Río-Navarro B, Rodríguez N, et al. Guía mexicana de práctica clínica de inmunoterapia 2011. *Rev Alergia Mex* 2011;58:16-21.
5. Pino-Yanes M, Gignoux CR, Galanter JM, Levin AM, et al. Genome-wide association study and admixture mapping reveal new loci associated with total IgE levels in Latinos. *J Allergy Clin Immunol* 2014 6:1-9. Disponible en: [http://ac.els-cdn.com/S0091674914015759/1-s2.0-S0091674914015759-main.pdf?\\_tid=f5453664-f59e-11e4-8004-00000aacb362&acdnat=1431102559\\_3b727763a821fb8f86dd1aeaed4664ee](http://ac.els-cdn.com/S0091674914015759/1-s2.0-S0091674914015759-main.pdf?_tid=f5453664-f59e-11e4-8004-00000aacb362&acdnat=1431102559_3b727763a821fb8f86dd1aeaed4664ee)
6. Levin AM, Mathias RA, Huang L, Roth LA, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies for serum total IgE in diverse study populations. *J Allergy Clin Immunol*. [internet]. 2013;131:1176-1184. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3596497>.
7. Mir E, Panjabi C, Shah A. Impact of allergic rhinitis in school going children. *Asia Pac Allergy* 2012;2:93-100. Disponible en: <http://apallergy.org/Synapse/Data/PDFData/9996APA/apa-2-93.pdf>
8. Tu YL, Chang SW, Tsai HJ, Chen LC, et al. Total serum IgE in a population-based study of Asian children in Taiwan: reference value and significance in the diagnosis of allergy. *PLoS ONE*. 2013 8(11): [e80996.] Consultado en Agosto de 2015. Disponible en: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.pone.0080996&representation=PDF>

# Identificación de microorganismos asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable

Gabriela Angulo-Pérez<sup>1</sup>, Eulalio Vivar-Acevedo<sup>1</sup>, Diana Andrea Herrera-Sánchez<sup>2</sup>

## Resumen

**ANTECEDENTES:** la prevalencia de rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable (IDCV) es de 52%. Los pacientes con esta enfermedad tienen mayor frecuencia de rinosinusitis crónica, enfermedad inflamatoria que afecta a la mucosa de uno o más senos paranasales y la cavidad nasal.

**OBJETIVO:** identificar los microorganismos de secreción del meato medio obtenida por endoscopia asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable (IDCV).

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio descriptivo, transversal, que incluyó a pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable, de quienes se obtuvo una muestra vía endoscópica de secreción del meato medio de ambas fosas nasales, que se envió a cultivo para bacterias aerobias, anaerobias y hongos. Se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes.

**RESULTADOS:** se estudiaron 29 pacientes: 18 mujeres y 11 hombres, con edad promedio de  $40 \pm 13$  años. Los resultados obtenidos fueron: 2 muestras de pacientes no tuvieron desarrollo microbiano, 24 tuvieron desarrollo de bacterias aerobias, en 3 casos hubo crecimiento fúngico sin desarrollo de bacterias anaerobias.

**CONCLUSIONES:** nuestros resultados muestran que los microorganismos asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable más comunes son: *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus*, *Sphingomonas paucimobilis* y *Citrobacter koseri*; los agentes micóticos asociados fueron: *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*.

**PALABRAS CLAVE:** microorganismos, rinosinusitis crónica, inmunodeficiencia común variable, meato medio, endoscópico.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):26-31.

## Identification of microorganisms related to chronic rhinosinusitis in adult patients with variable common immunodeficiency.

Gabriela Angulo-Pérez<sup>1</sup>, Eulalio Vivar-Acevedo<sup>1</sup>, Diana Andrea Herrera-Sánchez<sup>2</sup>

## Abstract

**BACKGROUND:** The prevalence of chronic rhinosinusitis in adult patients with common variable immunodeficiency (CVID) is 52%. The

<sup>1</sup> Servicio de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello.

<sup>2</sup> Servicio de Alergia e Inmunología Clínica. Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Recibido: 13 de octubre 2015

Aceptado: 8 de diciembre 2015

## Correspondencia

Dra. Gabriela Angulo Pérez  
apybag@hotmail.com

## Este artículo debe citarse como

Angulo-Pérez G, Vivar-Acevedo E, Herrera-Sánchez DA. Identificación de microorganismos asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable. Rev Alerg Méx 2016 ene-mar;63(1):26-31.

patients with CVID show higher incidence of chronic rhinosinusitis, which is an inflammatory disease that affects the lining of one or more paranasal sinuses and nasal cavity.

**OBJECTIVE:** To identify the microorganisms in the middle meatus secretion obtained by endoscopy associated with chronic rhinosinusitis in adult patients with common variable immunodeficiency (CVID).

**MATERIAL AND METHOD:** A descriptive, cross-sectional study, which included adult patients with CVID, from whom a sample endoscopic middle meatus secretion from both nostrils was obtained and sent to culture for aerobic, anaerobic bacteria and fungi. Informed consent of all patients was obtained.

**RESULTS:** 29 patients were studied: 18 women and 11 men with a mean age of  $40 \pm 13$  years. The results were: 2 samples showed no microbial growth, 24 showed growth of aerobic bacteria, 3 cases had fungal growth without development of anaerobic bacteria.

**CONCLUSIONS:** Our results show that the most common microorganisms associated with CSR in adult patients are: *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus*, *Sphingomonas paucimobilis* and *Citrobacter koseri*, and associated fungal agents were: *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*.

**KEYWORDS:** microorganisms; chronic rhinosinusitis; common variable immunodeficiency

<sup>1</sup> Servicio de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello.

<sup>2</sup> Servicio de Alergia e Inmunología Clínica. Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

#### Correspondence

Dra. Gabriela Angulo Pérez  
apybag@hotmail.com

## ANTECEDENTES

La rinosinusitis crónica es una enfermedad inflamatoria que afecta a la mucosa de uno o más senos paranasales y la cavidad nasal; en pacientes con inmunodeficiencia común variable su prevalencia es de 52%.<sup>1</sup>

A pesar de su prevalencia, no se han establecido los mecanismos patogénicos y los agentes implicados en esta enfermedad. No está claro cuáles son los gérmenes responsables en la sobreproducción de eosinófilos y linfocitos que ocurre en la rinosinusitis crónica que perpetúa la respuesta inflamatoria de la mucosa nasosinusal.<sup>2,3</sup>

Los estudios de microbiología en rinosinusitis crónica realizados en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable muestran

variabilidad en sus resultados debido al uso de diferentes técnicas para la obtención de las muestras, administración repetida de antibióticos y la dificultad para reconocer si los microorganismos aislados son patógenos verdaderos o agentes colonizadores.<sup>2,3</sup>

La endoscopia nasal es una técnica que permite obtener la muestra directamente del sitio de drenaje de los senos paranasales, con mínima incomodidad para el paciente, lo que permite determinar la microbiología de los senos paranasales con baja probabilidad de contaminación.<sup>4-6</sup>

Araujo y su grupo validaron el uso de la endoscopia nasal para la obtención de secreción del meato medio y determinar de esta manera los microorganismos en pacientes con rinosinusitis crónica.<sup>4</sup>

Jiang y colaboradores demostraron que el meato medio es el lugar más adecuado para la toma de muestras, es el lugar de drenaje del seno maxilar, las celdillas etmoidales anteriores y el seno frontal; los microorganismos de esta área reflejan mejor la microbiología de los senos paranasales en comparación con otras técnicas: exudado nasal y punción del antro maxilar. Establecieron el uso de aspiración de meato medio como el mejor método para identificar los microorganismos en pacientes con diagnóstico de rinosinusitis crónica.<sup>7,8</sup>

Araujo y colaboradores demostraron que 80% de las muestras obtenidas por punción del seno maxilar y las obtenidas por secreción de meato medio tenían crecimiento del mismo microorganismo. Este estudio sugiere que el cultivo obtenido guiado por endoscopia del meato medio es una alternativa viable y eficiente en relación con la punción del antro maxilar, tiene las ventajas de ser un método no invasivo y menos costoso.<sup>4</sup>

No hay estudios consistentes que definan el tipo de las bacterias causales de rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable. Por esta razón decidimos estudiar la incidencia de microorganismos presentes en la secreción de meato medio obtenida vía endoscópica en pacientes con rinosinusitis crónica e inmunodeficiencia común variable. La obtención de estas muestras es importante para guiar el tratamiento adecuado de acuerdo con el cultivo y la sensibilidad a los antimicrobianos.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo, transversal, que incluyó a 29 pacientes, 18 mujeres y 19 hombres con límites de edad de 18 a 69 años.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes adultos con diagnóstico de inmunodeficiencia

común variable (criterios de la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias Primarias), pertenecientes a la Clínica de Inmunodeficiencias del Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda. Se excluyeron los pacientes que habían consumido antimicrobianos 20 días antes de la obtención de la muestra.

Se obtuvo la muestra con la siguiente técnica: se colocó algodón con anestesia y vasoconstrictor local lidocaína 1% con epinefrina 0.25% durante 10 minutos, se retiraron los algodones, se obtuvo con hisopo secreción del meato medio, dirigido con ayuda de endoscopio Storz de 0° dirigido hacia el meato medio. Se transportó la muestra en medio Stuart, se llevó al laboratorio de nuestro hospital en un tiempo promedio menor a 2 horas y las analizó el mismo experto.

En el laboratorio las muestras se inocularon para bacterias aerobias en medio MacConkey (peptonas, sales biliares, cristales púrpura, pH neutral) y agar sangre (agar Columbia + 5% de sangre de cordero), incubados a 37°C durante 48 horas. El mismo experto identificó los microorganismos.

La búsqueda de bacterias anaerobias se realizó cultivando la secreción obtenida en medio agar chocolate (agar, peptona carne, tripteína, extracto de levadura, extracto de corazón, almidón soluble, cloruro de sodio, sangre ovina, suplemento, agua purificada), en condiciones anaerobias a 35°C durante cinco días y revisadas cada 24 horas.

Para el análisis fúngico, las muestras se cultivaron en medio Sabouraud (peptona, tripteína, glucosa, cloranfenicol y agar). Los especímenes se cultivaron a 35°. Los cultivos se revisaron cada 24 horas durante tres días.

El mismo experto evaluó todas las muestras.

Este estudio lo aprobó el Comité de Ética local. Los pacientes firmaron un consentimiento informado y se les dieron a conocer los resultados.

## RESULTADOS

De los 29 pacientes estudiados (18 mujeres y 11 hombres, con edad promedio de  $40 \pm 13$  años), dos muestras no mostraron desarrollo antimicrobiano, 24 tuvieron desarrollo de bacterias aerobias, en tres casos hubo crecimiento fúngico y no se encontró crecimiento de bacterias anaerobias.

Las bacterias aerobias encontradas fueron grampositivas en 18 casos y gramnegativas en nueve.

Las bacterias grampositivas que mostraron mayor desarrollo fueron: *Staphylococcus epidermidis* en 10 muestras, *Staphylococcus aureus* en 4 muestras, *Staphylococcus haemolyticus* en una muestra.

Las bacterias gramnegativas encontradas fueron: *Moraxella catarrhalis* en seis muestras, dos muestras con *Sphingomonas paucimobilis* y una muestra con crecimiento de *Citrobacter koseri*.

Crecimiento fúngico: *Candida albicans* tuvo crecimiento en dos muestras (8% del total de muestras obtenidas) y *Aspergillus fumigatus* en una muestra (4%). Cuadro 1

## DISCUSIÓN

En años recientes se han realizado diversos estudios para identificar microorganismos de secreción del meato medio guiado por endoscopia,<sup>2-5</sup> pero hay poca información en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable (Cuadro 2).

En el estudio de microorganismos asociados con rinosinusitis crónica debe considerarse el

**Cuadro 1.** Porcentaje de bacterias aerobias encontradas en secreción del meato medio de los 29 pacientes

Bacterias	Núm. (%)
<b>Grampositivas</b>	18 (67)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 (42)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (17)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 (4)
<b>Gramnegativas</b>	9 (33)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6 (25)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2 (8)
<i>Citrobacter koseri</i>	1 (4)

método de obtención de la muestra, el medio de transporte y el tiempo en que se analizó la muestra. En nuestro estudio la muestra se obtuvo de secreción del meato medio por vía endoscópica y la muestra se entregó en menos de una hora posterior a la recolección.

Las bacterias aerobias gramnegativas aisladas en nuestro estudio fueron: *Moraxella catarrhalis* (n=6, 25%), *Sphingomonas paucimobilis* (n=2, 8%) y *Citrobacter koseri* (n=1, 4%); de los estudios revisados en ninguno se aisló *Sphingomonas paucimobilis*.

*Sphingomonas paucimobilis* es un bacilo gramnegativo que se ha aislado en pacientes con bacteremia, meningitis, peritonitis, infecciones cutáneas, abscesos viscerales, pero existe escasa bibliografía acerca de este microorganismo asociado con rinosinusitis crónica en pacientes con inmunodeficiencia común variable.<sup>9</sup>

*Citrobacter koseri* se aisló en nuestro estudio en una muestra (4%) y sólo en el estudio de Panduranga<sup>5</sup> se aisló *Citrobacter koseri* en 1% de los casos. En el estudio de Daza se incluyeron 25 pacientes con rinitis crónica y este microorganismo se identificó como patógeno causal de rinitis crónica en cuatro pacientes.<sup>10</sup>

Este estudio encontró como microorganismos asociados con rinosinusitis crónica más

**Cuadro 2.** Análisis comparativo de flora microbiana obtenida por vía endoscópica en pacientes sin inmunodeficiencia común variable<sup>2,4,5</sup>

Patógenos	Panduranga, 2013 (n=100)	Mantovani, 2010 (n=62)	Araujo, 2007 (n=134)	Angulo, 2015 (n=29)
<i>Staphylococcus aureus</i>	43	4	53	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	4	19	10
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	0	2	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	3	22	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	8	10	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	1	0	0
<i>Enterobacter</i> sp	1	2	3	0
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0	0	1
<i>Sphingomonas paucimirabilis</i>	0	0	0	1
<i>Candida albicans</i>	3	0	6	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	0	1	1

frecuentes a *Moraxella catarrhalis* (25%) y *Staphylococcus aureus* (17%). En el estudio de Mantovani, efectuado en 62 pacientes con rinosinusitis crónica sin inmunodeficiencia común variable (2010),<sup>2</sup> los microorganismos aislados más comunes fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

En la mayor parte de los estudios realizados en pacientes sin inmunodeficiencia el agente causal más común fue *Staphylococcus aureus* con porcentajes de manifestación de 15 a 45%.<sup>3-5,10</sup> En este estudio, *Staphylococcus aureus* se aisló en cuatro muestras (17%); el porcentaje fue similar en pacientes con y sin inmunodeficiencia común variable.

*Staphylococcus epidermidis* es un colonizador de la cavidad nasal en personas sanas<sup>11</sup> y Ozcan y colaboradores<sup>12</sup> concluyeron que no debe incluirse como microorganismo causal de rinosinusitis crónica. En nuestro estudio representó 10 muestras (42%).

*Staphylococcus haemolyticus* no se aisló en ningún otro estudio revisado; esto se debe a que este microorganismo afecta con mayor frecuencia a pacientes con inmunodepresión. En nuestro estudio representó una muestra (4%).

Al igual que en otros estudios, en éste no se aislaron microorganismos anaerobios. Las causas de esto pueden incluir: factores técnicos como contaminación de la muestra, inadecuada técnica de sembrado, así como un medio de cultivo no adecuado para anaerobios estrictos que podrían haber disminuido el número de anaerobios estrictos aislados en nuestro estudio y el tratamiento con corticoesteroides nasales que se administra a los pacientes, que aumenta el drenaje de material purulento y permite una mejor oxigenación de los senos paranasales disminuyendo el crecimiento de anaerobios.<sup>2,5,7-8,13</sup>

También se estudió la incidencia de hongos en nuestros pacientes con rinosinusitis crónica e inmunodeficiencia común variable. Dos muestras tuvieron desarrollo de *Candida albicans* (8%) y una muestra de *Aspergillus fumigatus* (4%), cifras menores a las reportadas por Araujo<sup>4</sup> y Panduranga,<sup>5</sup> pero mayores a lo reportado por Mantovani<sup>2</sup> y Nigro.<sup>14</sup>

### CONCLUSIÓN

Los microorganismos asociados con rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable más comunes son: *Moraxella catarrhalis* y *Staphylococcus aureus*



y las bacterias gramnegativas *Sphingomonas paucimobilis* y *Citrobacter koseri*. Los agentes fúngicos aislados fueron *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*.

Esto sugiere que a todos nuestros pacientes con diagnóstico de rinosinusitis crónica e inmunodeficiencia común variable debemos tomar cultivo de secreción del meato medio vía endoscópica, para iniciar el tratamiento adecuado principalmente contra *Staphylococcus aureus* y *Moraxella catarrhalis*.

De acuerdo con los microorganismos aislados se recomienda iniciar tratamiento con doxiciclina 100 mg vía oral cada 24 horas durante 14 días y, en caso de aislamiento de hongos, se sugiere realizar cirugía funcional endoscópica de nariz y senos paranasales.

## REFERENCIAS

1. Angulo-Pérez G, Vivar-Acevedo E. Prevalencia, localización y severidad tomográfica de rinosinusitis crónica en pacientes adultos con inmunodeficiencia común variable. *Revista Alergia México* 2015;62:15-21.
2. Mantovani K. Maxillary sinuses microbiology from patients with chronic rhinosinusitis. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010;76:548-551.
3. Majd Z, et al. The microbiology of chronic rhinosinusitis prior to functional endoscopic sinus surgery. *Pharmaceutical sciences* 2014;20:170.
4. Araujo E. Microbiology of middle meatus in chronic rhinosinusitis. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2007;73:549-555.
5. Panduranga K. Microbiological analysis of paranasal sinuses in chronic sinusitis- A south Indian coastal study. *Egyptian J Ear, Nose, Throat Allied Sci* 2013;14:185-189.
6. Busaba NY, Siegel NS, Salman SD. Microbiology of chronic ethmoid sinusitis. *Am J Otolaryngol* 2004;25:379-384.
7. Jiang RS, Hsu CY, Lin JF. Comparison of the bacteriologies between the ethmoid and maxillary sinuses in chronic paranasal sinusitis. *J Otolaryngol Soc Roc* 1993;28:308-317.
8. Jiang RS, Lin JF, Hsu CY. Correlation between bacteriology of the middle meatus and ethmoid sinus in chronic sinusitis. *J Laryngol Otol* 2002;116:443-446.
9. Hsueh PR, et al. Nosocomial infections caused by *Sphingomonas paucimobilis*: clinical features and microbiologic characteristics. *Clin Infect Dis* 1998;26:676-681.
10. Daza Hernández A. Identificación de *Citrobacter koseri* como nuevo patógeno en pacientes con rinitis crónica. *An Orl Mex* 2014;59:1-10.
11. Agnieszka M. Peculiar aspects of rhinosinusitis. En: *Microbiology aspects of rhinosinusitis*. Disponible en: [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
12. Ozcan M, Unal A, Aksaray S, Yalcin F, Akdeniz T. Correlation of middle meatus and ethmoid sinus microbiology in patients with chronic sinusitis. *Rhinology* 2002;40:24-27.
13. Brook I, Frazier EH. Correlation between microbiology and previous sinus surgery in patients with chronic maxillary sinusitis. *Ann Otol Laryngol* 2001;110:148-151.
14. Nigro JFA. Microbiologia dos seios maxilares e etmoidal em pacientes com rinosinusite crónica submetidos à cirurgia funcional endoscópica dos seios paranasais. *Braz J Otorhinolaryngol* 2006;72:217-222.

# Efecto de la rinitis y el asma en el ausentismo y rendimiento laboral y escolar en una población del trópico latinoamericano

Jorge Sánchez<sup>1</sup>, Javier Estarita<sup>2</sup>, Carolina Salemi<sup>3</sup>

## Resumen

**ANTECEDENTES:** el asma y la rinitis son las enfermedades respiratorias crónicas más frecuentes. Su alto efecto clínico se asocia con pérdidas de días laborales y menor rendimiento.

**OBJETIVO:** evaluar el efecto de la rinitis y el asma como causa de ausentismo y bajo rendimiento laboral en una población de adultos y niños.

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio trasversal, realizado en 10 escuelas de dos ciudades de Colombia. Se invitó a participar a población estudiantil entre 6 y 17 años y a los empleados mayores de 18 años de edad. A todos los participantes se les realizó un cuestionario que evaluó parámetros relacionados con la historia clínica y se hizo una revisión de las calificaciones (matemáticas y español), hojas de vida y número de ausentismos durante el último año académico completado.

**RESULTADOS:** aceptaron participar 1,413 personas. La frecuencia de rinitis, asma o ambas fue de 36%. Hubo mayor frecuencia de ausentismo escolar en la población infantil con síntomas respiratorios (2.8 vs 1.2 días/año/paciente, p menor a 0.01) y hubo menor rendimiento académico (reprobó: 17 vs 9%, p menor a 0.05) y laboral (0.43 vs 0.27 p menor a 0.05) en la población sintomática. Observamos que los pacientes con buen apego al tratamiento farmacológico tenían menor ausentismo y mejor rendimiento.

**CONCLUSIÓN:** la rinitis y el asma se asocian con menor desempeño en la población infantil y adulta, al igual que con mayor ausentismo en la escuela; sin embargo, el tratamiento adecuado puede mejorar el control clínico y reducir el efecto negativo a nivel laboral.

**PALABRAS CLAVE:** alergia, aprendizaje, ausentismo, asma, rendimiento escolar, rendimiento psicomotor, rinitis.

<sup>1</sup> Grupo de Alergología Clínica y Experimental (GACE), IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Fundación Hospital San Carlos, Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup> Javesalud IPS, Bogotá, Colombia.

Recibido: 29 de agosto 2015

Aceptado: 14 de diciembre 2015

## Correspondencia

Dr. Jorge Sánchez  
jotamsc@yahoo.com

## Este artículo debe citarse como

Sánchez J, Estarita J, Salemi C. Efecto de la rinitis y el asma en el ausentismo y rendimiento laboral y escolar en una población del trópico latinoamericano. Rev Alerg Méx 2016 ene-mar;63(1):32-40.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):32-40.

## Rhinitis and asthma as a cause of absenteeism and poor work/school performance in a population from Latin-American tropic.

Jorge Sánchez<sup>1</sup>, Javier Estarita<sup>2</sup>, Carolina Salemi<sup>3</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Asthma and rhinitis are the most frequent chronic respiratory diseases. Their high impact is associated with the loss of working days, as well as a decrease in academic performance.

**OBJECTIVE:** To assess and compare the impact of rhinitis and asthma as causes of absenteeism and low work performance in a population of children and adults.

**MATERIAL AND METHOD:** A cross sectional study was performed in 10 schools of two cities in Colombia. The student population between 6 to 17 years, as well as the faculty staff over 18 were invited to participate. All of the participants filled a questionnaire assessing parameters related to clinical background, and a review of scores in Math and Spanish, curriculum vitae and number of missed day during the last academic period completed was performed.

**RESULTS:** A total of 1,413 participants were enrolled. The frequency of asthma and/or rhinitis was 36%, there was a greater frequency of absenteeism in the population of children with respiratory symptoms (2.8 vs 1.2 days/year/patient,  $p < 0.01$ ) and there was both a lower academic (failure in 17% vs 9%,  $p < 0.05$ ) and work performance (0.43 vs 0.27,  $p < 0.05$ ) in the symptomatic population. We observed that those patients with good adherence to pharmacologic treatment displayed lower absenteeism and an improved performance.

**CONCLUSION:** Both rhinitis and asthma are associated with lower performance in children and adults and absenteeism in the school; however, adequate treatment may improve clinical control and reduce backlash against job performance.

**KEYWORDS:** allergy; learning; absenteeism; asthma; school performance; psychomotor performance; rhinitis

<sup>1</sup> Grupo de Alergología Clínica y Experimental (GACE), IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Fundación Hospital San Carlos, Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup> Javesalud IPS, Bogotá, Colombia.

### Correspondence

Dr. Jorge Sánchez  
jotamsc@yahoo.com

### ANTECEDENTES

Varios estudios han demostrado la alta prevalencia de asma y rinitis en la población mundial, incluidos los países latinoamericanos.<sup>1-6</sup> Estas

enfermedades tienen un importante efecto perjudicial en la calidad de vida porque alteran el desarrollo personal y el estilo de vida de los sujetos y de sus familias.<sup>7,8</sup> Existen varios estudios europeos y de Estados Unidos que muestran el

efecto social de estas enfermedades,<sup>9,10</sup> pero poco se ha estudiado acerca de cómo estas enfermedades pueden afectar el desempeño laboral de los pacientes y sus posibles consecuencias sociales en los países latinoamericanos, que tienen condiciones socioeconómicas diferentes. La falta de control clínico puede generar desventajas entre las personas con asma, rinitis o ambas en términos intelectuales y laborales porque estos síntomas potencialmente podrían llevar a mayor ausentismo, menor concentración y, por tanto, menor rendimiento en comparación con los sujetos sin estos síntomas.

El tratamiento sintomático del asma y la rinitis se centra en la administración de fármacos (antihistamínicos, esteroides inhalados o nasales, broncodilatadores) para controlar la inflamación de las vías respiratorias superiores e inferiores,<sup>11-13</sup> pero poco se ha estudiado del efecto benéfico que este control de síntomas puede tener en los pacientes en parámetros objetivos, como la asistencia y el rendimiento laboral.

En este artículo, como desenlace primario, evaluamos si padecer rinitis, asma o ambas generaba menor rendimiento escolar o laboral y mayor ausentismo entre los pacientes mayores de seis años, en comparación con los sujetos sin estos síntomas. Como desenlace secundario, exploramos si el tratamiento farmacológico podía reducir este efecto.

**MATERIAL Y MÉTODO**

Estudio trasversal descriptivo. El universo total de sujetos que podían incluirse en el estudio fue de 4,123 estudiantes y 878 trabajadores (total: n=5,001); aceptaron participar 1,813 personas y 1,413 se incluyeron en el estudio (1,001 estudiantes y 412 trabajadores). Entre los 400 sujetos que aceptaron participar, pero no se incluyeron en este estudio, el principal motivo fue la falta de datos en la historia del centro, no

haber estado vinculado en la institución durante el periodo de evaluación (año 2013-2014) y tener alguna comorbilidad crónica que pudiera afectar la evaluación del desenlace primario (Figura 1). Las características sociodemográficas de los pacientes excluidos eran similares a las de los pacientes que permanecieron durante el seguimiento. El universo poblacional estuvo conformado por los estudiantes mayores de seis años y los trabajadores de ocho escuelas procedentes de dos ciudades de Colombia (cuatro en Cartagena y cuatro en Bogotá). Seis de las escuelas eran públicas y dos privadas (una en cada ciudad). La recolección de los datos se realizó de enero a diciembre de 2014 por medio de evaluación médica, encuestas y datos del plantel educativo obtenidos durante el periodo escolar previo (enero a diciembre de 2013). Por medio de cuestionarios basados en el estudio ISAAC, las guías ARIA y las guías GINA ([www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)), obtuvimos información de la existencia o no de enfermedades respiratorias, la existencia de otras enfermedades crónicas, el tratamiento farmacológico y la gravedad de los síntomas. Se recolectaron los datos de todas las personas que manifestaron estar de acuerdo en participar; sin embargo, para este artículo excluimos a todos

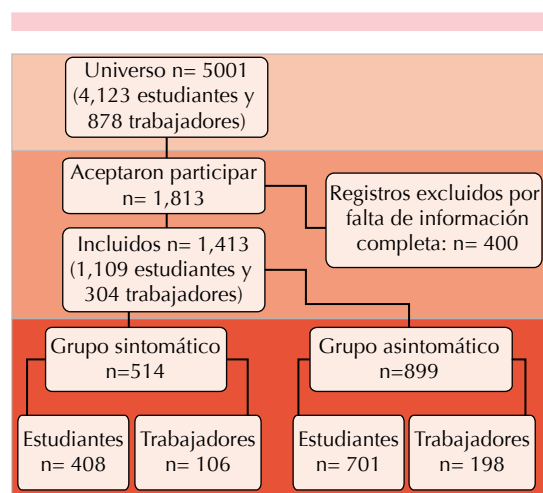


Figura 1. Flujograma del estudio.

los sujetos con comorbilidades crónicas que pudieran influir en la interpretación de los resultados. Para esta selección utilizamos el Índice de Comorbilidad de Charlson,<sup>14</sup> para excluir a los pacientes con comorbilidades graves que podían aumentar los costos y la gravedad de los síntomas por causas diferentes a las enfermedades estudiadas.

Para la evaluación del desenlace primario usamos como variables de medición el número de días de ausentismo, el promedio de notas de los estudiantes en matemáticas y español durante el periodo académico 2013, al igual que los comentarios, amonestaciones y otras notificaciones presentes en las hojas de vida de los trabajadores de las instituciones incluidas, que estuvieran directamente ligadas con menor desempeño laboral: no entrega de informes a tiempo, no finalización de tareas en el tiempo esperado, etc. La selección de matemáticas y español se realizó debido a que son materias con parámetros evaluativos objetivos que son estudiadas de manera transversal durante toda la primaria y el bachillerato. Debido a las diferencias en las escalas calificativas entre las instituciones, al ser unas cualitativas y otras cuantitativas, hicimos una homogenización utilizando una escala semicuantitativa: sobresaliente (80% o más de rendimiento esperado de acuerdo con la escala utilizada), promedio (60 a 79%) insuficiente (reprobado, 59% o menos). Los parámetros de evaluación usados en las escuelas fueron: examen escrito, presentaciones orales, trabajos en casa, etc. Por tanto, luego de realizar el análisis general, realizamos análisis de subgrupos para evaluar si estas diferencias eran significativas por la existencia o no de síntomas respiratorios o si, por el contrario, eran secundarias a las diferencias evaluativas e institucionales de cada escuela y de cada grado. Sólo tuvimos en cuenta los días de ausentismo relacionados con la atención en salud, licencia por enfermedad o suspensiones que indirectamente pudieran estar relacionadas con las enfermedades estudiadas.

No se incluyeron ausentismos por vacaciones, permisos para diligencias no médicas, etc.

Para evaluar el desenlace secundario realizamos un análisis estratificado entre los pacientes con asma, rinitis o ambas, de acuerdo con si el paciente recibía o no tratamiento farmacológico, que se agrupó de acuerdo con las recomendaciones de las guías GINA y ARIA.

### **Consideraciones éticas**

Todos los pacientes –o en caso de ser menores de edad, sus padres o acudientes– firmaron un consentimiento informado en el que autorizaban la revisión de los datos contenidos en la institución y aceptaban completar el cuestionario. Igualmente todas las instituciones participantes dieron su aval. El Comité de Ética de la Universidad de Cartagena evaluó y otorgó el permiso para la realización de este estudio.

### **Análisis**

Los análisis se hicieron mediante el programa SPSS versión 21 para Windows usando la prueba U de Wilcoxon para análisis intergrupos, de Mann-Whitney para análisis intragrupos y la prueba t de Student para diferencias de media en muestras independientes. Un valor de p menor a 0.05 se consideró estadísticamente significativo. Para el análisis de múltiples comparaciones utilizamos la prueba de Dunn. Las proporciones se analizaron mediante tablas de contingencias y la prueba exacta de Fisher. Debido a las diferencias en el número de sujetos por grupos, los resultados se presentan como valores absolutos o porcentajes según la variable.

## **RESULTADOS**

### **Descripción de los sujetos**

En esta investigación sólo incluimos como sintomáticos a los pacientes con diagnóstico médico

de asma, rinitis o ambas. En total, 514 pacientes tenían diagnóstico de asma (n=153) o rinitis (n=479), 77% de los pacientes con asma tenía rinitis, por lo que decidimos tratar la muestra como un solo grupo (grupo sintomático, Figura 1 y Cuadro 1). Observamos diferencias significativas en la distribución por sexo entre los grupos por edad y en la frecuencia de asma.

El 93% de los pacientes con rinitis reportó que los síntomas nasales se manifestaban al menos cuatro días de la semana y 73% de los asmáticos comentó sentir síntomas bronquiales al menos dos veces por semana. Aunque 93% de los pacientes con asma, rinitis o ambas tenía prescrito un tratamiento farmacológico, sólo 35% lo seguía con regularidad de al menos cinco días por semana.

**Ausentismo**

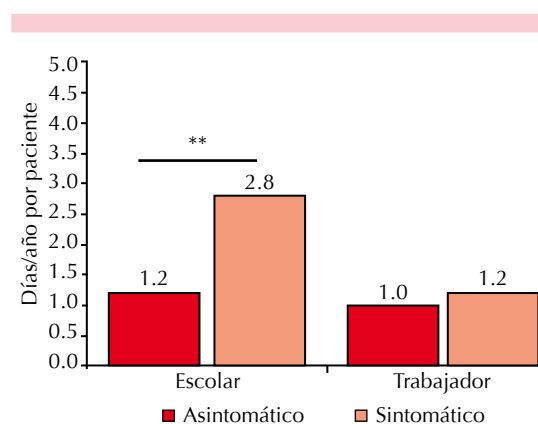
De las exacerbaciones por cualquier motivo, la principal causa de ausentismo se asoció con enfermedades agudas o con permisos para trámites asociados con la salud en ambos grupos (89%); en 73% de los casos, estos cuadros estaban asociados con síntomas respiratorios o eran consecuencia de ellos (por ejemplo, sinusitis).

En el grupo de sujetos sintomáticos, la frecuencia de ausentismo fue proporcionalmente similar al grupo control (días de ausencias: 716 vs 1,214, respectivamente). Sin embargo, al estratificar

entre estudiantes y trabajadores, los estudiantes, especialmente entre 6 y 14 años del grupo sintomático, tenían mayor ausentismo. Debido a las diferencias en el tamaño de la muestra entre los grupos, en la Figura 2 se muestra el ausentismo de acuerdo con los días/año por número de personas en cada grupo. Entre los mayores de 18 años no hubo diferencias estadísticamente significativas (p=0.08).

**Rendimiento laboral-escolar**

A nivel escolar se observó que el número de estudiantes con notas insuficientes (reprobado)



**Figura 2.** Ausentismo calculado de acuerdo con el número de días de ausentismo por año por número de personas en cada grupo.

\*p<0.05.  
\*\*p<0.01.

**Cuadro 1.** Características de los pacientes

	Grupo				p
	Estudiantes		Trabajadores		
	Sintomáticos n=408	Asintomáticos n=701	Sintomáticos n=106	Asintomáticos n=198	
Edad (años)	11 (6-17)	12 (6-17)	39 (18-64)	40 (18-63)	0.03
Sexo femenino	208 (50%)	364 (51%)	45 (42%)	78 (39%)	0.04
Asma	112 (27%)	0	41 (38%)	0	0.05
Rinitis	394 (96%)	0	85 (80%)	0	0.06

En total, 514 pacientes (408 escolares y 106 trabajadores) tenían el diagnóstico médico de asma (n=153) o rinitis (n=479); 98 estudiantes y 20 adultos tenían asma y rinitis.

en matemáticas y español era mayor en el grupo asintomático (Figura 3A). Asimismo, los trabajadores de la institución que padecían asma, rinitis o ambas tenían mayor número de amonestaciones por sujeto (Figura 3B). La principal causa de las amonestaciones fue retraso en la entrega de informes o labores (76%).

### Repercusión del tratamiento farmacológico

Entre los pacientes con síntomas respiratorios observamos que los escolares que recibían tratamiento farmacológico tenían una frecuencia significativa ( $p=0.04$ ) de menor ausentismo (días/año/paciente: 1.8), en comparación con quienes no lo recibían (días/año/paciente: 2.9), pero aún superior al grupo control (días/año/paciente: 1.2). Cuadro 2

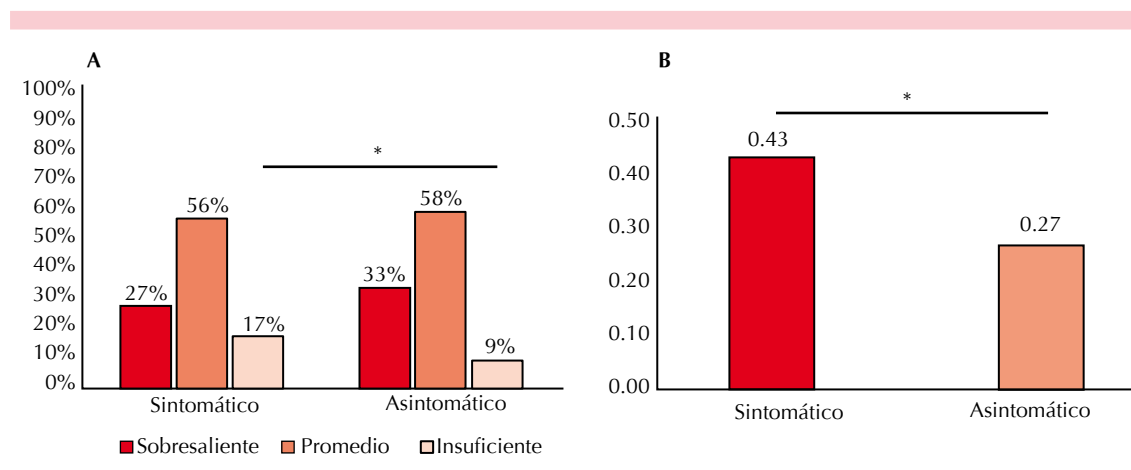
Cuando analizamos si el apego al tratamiento influía en el resultado, observamos una tendencia a mejor respuesta con la administración de al menos cinco o más días por semana. De manera similar, los pacientes con tratamiento

farmacológico con apego adecuado tuvieron un rendimiento superior al de los pacientes que no recibían tratamiento continuo y era similar al del grupo control. De igual manera, los pacientes trabajadores con tratamiento farmacológico adecuado tuvieron un número de amonestaciones similar al del grupo control y menor que el grupo con síntomas y sin tratamiento (Cuadro 2).

### DISCUSIÓN

El asma y la rinitis son enfermedades de alta prevalencia y de carácter crónico, por lo que su efecto socioeconómico y en la salud es bastante alto para el paciente y para el sistema de salud.<sup>15</sup> Por esta razón, representan un problema de salud pública y es necesario evaluar el efecto que tienen para el paciente, su núcleo familiar y social.

Las variables de evaluación que utilizamos nos permiten explorar el efecto de estas enfermedades a nivel social. De manera similar a las observaciones previas realizadas en Europa y Estados Unidos,<sup>8,16</sup> observamos que la rinitis y el



**Figura 3.** Rendimiento escolar y laboral. **A.** En los escolares el rendimiento se clasificó con una escala semi-cuantitativa. **B.** Entre los trabajadores, se calculó el número de amonestaciones acumuladas durante el periodo de estudio en la hoja de vida por persona en cada grupo.

\* $p<0.05$ .

\*\* $p<0.01$ .

**Cuadro 2.** Efecto del tratamiento farmacológico

	Sintomático con tratamiento	Sintomático sin tratamiento	Asintomático	p
Ausentismo escolar	1.8	2.9	1.2	0.04
Reprobado	12%	18%	9%	0.04
Amonestaciones en los trabajadores	0.33	0.42	0.27	0.03

La p representa la diferencia estadística entre el grupo sintomático con y sin tratamiento.

asma son una causa importante de ausentismo y bajo rendimiento escolar; de igual manera, su efecto en la población adulta lleva a un rendimiento laboral bajo. El tratamiento adecuado permite a estos pacientes tener un mejor control sintomático, lo que además mejora de manera importante el rendimiento laboral y académico de los pacientes, con resultados similares a los del grupo asintomático. La falta de asociación con ausentismo en la población adulta puede deberse a las costumbres sociales y culturales de nuestra población en la que a veces el temor a ser despedidos se antepone a la salud; sin embargo, el mayor número de amonestaciones refleja que en esta población el efecto socio-laboral de estas enfermedades también es importante.

La revisión de los artículos publicados permite concluir que la mayor parte de las evaluaciones económicas demuestra que la rinitis y asma tienen un costo económico alto por el tratamiento farmacológico, el seguimiento médico requerido, las urgencias, etc. Aunque en muchos países parte de este gasto es asumido por el tercer pagador (sistema de salud), todas las evaluaciones económicas coinciden en que el gasto es mayor para el paciente, porque es quien asume los costos indirectos de la enfermedad (ausentismo laboral o escolar del paciente y de su grupo social), que según algunos estudios representa la mayor parte de los gastos asociados con la rinitis y el asma.<sup>17</sup>

Los resultados de este estudio indican que el tratamiento farmacológico adecuado puede lle-

var a un mejor control sintomático; no obstante, también observamos que aunque la mayoría de los pacientes tiene acceso a este tratamiento, la tasa de apego es muy baja, con lo que disminuye su efecto clínico, por lo que se necesitan campañas de promoción y prevención que permitan mayor concientización del problema al paciente.

Debido a que los artículos del tema se basan en estudios publicados en países de Europa y en Estados Unidos, se espera que la mayor parte analice evaluaciones económicas con sistemas de salud diferentes a las de los países latinoamericanos, por lo que las conclusiones de este tipo de estudios pueden variar de un lugar a otro según las características de cada población: por ejemplo, el costo de horas laborales, el tipo de sistema académico, etc. De manera similar a nuestros resultados, entre las pocas evaluaciones latinoamericanas realizadas acerca de este tema, Velástegui y colaboradores observaron en Chile que los pacientes escolares con asma severa tenían el doble de gasto derivado de salud y mayor ausentismo escolar que los sujetos no asmáticos.<sup>15</sup> Es recomendable que en cada país se realice una valoración en términos de su situación social y económica; por esta razón nuestros resultados son importantes para Latinoamérica, porque exploran el efecto de la rinitis y el asma en una población con condiciones sociodemográficas similares a las reportadas en las principales ciudades tropicales de la región que tal vez se asemejen mejor a las realidades socioeconómicas, en comparación con los estudios provenientes de Estados Unidos o Europa.



Nuestro estudio tiene varias limitaciones secundarias a su diseño observacional y la ausencia de cegamiento. Observamos que la población mayor de 18 años que trabajaba en las instituciones era mayoritariamente masculina; sin embargo, este sesgo no afecta de manera importante los desenlaces evaluados porque se contó con una muestra representativa de ambos sexos en los diferentes grupos. Entre las fortalezas está la medición sistemática de variables de evaluación objetivas, los cuestionarios los llenaron los pacientes con la asesoría de personal capacitado en el área de la salud (médicos, enfermeras o auxiliares de enfermería), lo que permitió un seguimiento adecuado y confiable de los parámetros evaluados. La selección de matemáticas y español como parámetros de evaluación del rendimiento escolar tiene algunas limitaciones; la variabilidad en los conocimientos de los maestros, las estrategias educativas usadas y las destrezas de los alumnos podían influir en los resultados de las notas. Sin embargo, estas variables se ven compensadas por el hecho de que todos los niños incluidos en cada plantel estaban sujetos a estas variables y la variable diferencial fue la existencia o no de síntomas respiratorios. Además, el mejor rendimiento entre todos los niños con asma, rinitis o ambas que recibían medicación en comparación con los que no tenían tratamiento refuerza la hipótesis de que la menor productividad encontrada entre los niños con enfermedades respiratorias se debía, en gran parte, a la enfermedad y no a otros factores, como el método evaluativo de cada institución.

En resumen, observamos que la rinitis y el asma son importantes factores de riesgo de ausentismo escolar y bajo desempeño laboral en población infantil y adulta; sin embargo, el efecto de estas enfermedades puede reducirse con un tratamiento adecuado. Es necesario realizar estudios de promoción y prevención para concientizar al paciente y a las instituciones de la importancia

que tiene un buen control clínico de estas enfermedades.

### Agradecimientos

Este artículo fue financiado por el ministerio de salud de Colombia, el Grupo de Alergología Clínica y Experimental de la Universidad de Antioquia, La Universidad de Cartagena y la Fundación Hospital San Carlos, Bogotá, Colombia.

Nuestro agradecimiento a las instituciones por su permiso y apoyo. A estudiantes, profesores y demás miembros de las instituciones que amablemente aceptaron participar en la realización del estudio.

### REFERENCIAS

1. Dennis R, Caraballo L, Garcia E, Caballero A, et al. Asthma and other allergic conditions in Colombia: a study in 6 cities. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93:568-574.
2. Vergara C, Caraballo L. Asthma mortality in Columbia. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;80:55-60.
3. Neffen H, Baena-Cagnani CE, Malka S, Sole D, et al. Asthma mortality in Latin America. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1997;7:249-253.
4. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl J Med* 2006;355:2226-2235.
5. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck O, Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. *Allergy* 2010;65:152-167.
6. Fasce L, Tosca MA, Baroffio M, Olcese R, Ciprandi G. Atopy in wheezing infants always starts with monosensitization. *Allergy Asthma Proc* 2007;28:449-453.
7. Yepes-Núñez JJ, Gómez C, Espinoza Y, Cardona R. [The impact of subcutaneous immunotherapy with *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* on the quality of life of patients with allergic rhinitis and asthma]. *Biomedica* 2014;34:282-290.
8. Meltzer EO, Gross GN, Katial R, Storms WW. Allergic rhinitis substantially impacts patient quality of life: findings from the Nasal Allergy Survey Assessing Limitations. *J Fam Pract* 2012;61(2 Suppl):S5-10.
9. Jáuregui I, Mullol J, Dávila I, Ferrer M, et al. Allergic rhinitis and school performance. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009;19(Suppl 1):32-39.
10. Shedden A. Impact of nasal congestion on quality of life and work productivity in allergic rhinitis: findings from a large online survey. *Treat Respir Med* 2005;4:439-446.

11. Caraballo L, Acevedo N. Allergy in the tropics: the impact of cross-reactivity between mites and ascaris. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;3:51-64.
12. Sanchez J, Diez S, Cardona R. Sensibilización a aeroalergenos en pacientes alérgicos de Medellín, Colombia. *Revista Alergia México* 2012;59:139-147.
13. Riechelmann H, Europäischen Akademie für Allergie und Klinische Immunologie (EAACI) un der European Rhinologic Society (ERS). [Chronic Rhinosinusitis - EPOS 2012 Part I]. *Laryngorhinootologie* 2013;92:193-201; quiz 2-3.
14. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis* 1987;40:373-383.
15. Velástegui C, Pérez-Canto P, Zárate V, Arenas D, et al. [Impact of asthma among primary attention children]. *Rev Med Chil* 2010;138:205-212.
16. Blanchette CM, Gutierrez B, Ory C, Chang E, Akazawa M. Economic burden in direct costs of concomitant chronic obstructive pulmonary disease and asthma in a Medicare Advantage population. *J Manag Care Pharm* 2008;14:176-185.
17. Baiardini I, Braido F, Tarantini F, Porcu A, et al. ARIA-suggested drugs for allergic rhinitis: what impact on quality of life? A GA2LEN review. *Allergy* 2008;63:660-669.

## Factores comunes e inductores de inflamación en asma y obesidad

Gloria Bertha Vega-Robledo<sup>1</sup>, Rodrigo Huerta-Gutiérrez de Velasco<sup>2</sup>, Guadalupe Rico-Rosillo G<sup>1</sup>

### Resumen

La incidencia de asma y obesidad está en aumento, por lo que se han catalogado como problemas de salud pública. Los datos epidemiológicos sugieren una relación entre ellas y se ha detectado una asociación entre el índice de masa corporal y la función pulmonar. Diversos estudios demuestran una correlación directa entre este índice y el asma. Mediante la búsqueda de referencias en bases de datos médicos de artículos publicados en revistas indexadas, con las palabras clave asma y obesidad: patogénesis, inflamación, adipocinas, hipoxia, nutrición, embarazo, este artículo profundiza en el conocimiento de los elementos básicos que interrelacionan el asma con la obesidad. Se encontró que la asociación existente entre el índice de masa corporal y el asma es más evidente en el sexo femenino. El asma y la obesidad pueden estar influidas por elementos genéticos y programación fetal. A su vez, la obesidad puede incidir en el asma por diversos mecanismos, como los mecánicos, hormonales o inflamatorios. La coincidencia existente entre varios inductores y elementos que exacerban a estas enfermedades, así como en algunas vías moleculares, ponen de manifiesto una relación potencial entre ambas afecciones.

**PALABRAS CLAVE:** asma, obesidad, inflamación, adipocinas, hipoxia.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):41-57.

## Common and inductors factors of inflammation in asthma and obesity.

Gloria Bertha Vega-Robledo<sup>1</sup>, Rodrigo Huerta-Gutiérrez de Velasco<sup>2</sup>, Guadalupe Rico-Rosillo G<sup>1</sup>

### Abstract

The incidence of asthma and obesity is increasing, therefore they have been classified as public health problems; epidemiology suggests a link between these diseases. It has been detected a relationship between the body mass index and lung function, moreover some works show a direct correlation between the aforementioned index and severity of asthma. By a search for articles in indexed journals from medical databases with the key words asthma and obesity: pathogenesis, inflammation, adipokines, hypoxia, nutrition, pregnancy, this paper deeps in the knowledge about basic elements that offer an asthma and obesity link. It was found that the association between body mass index and asthma is more frequent in women. Asthma and obesity might be influenced by genetic elements and fetal programming; at the same time obesity could influence asthma by several mechanisms such as inflammation, hormones and mechanical respiratory dysfunction. The existing coincidence between several inducers and factors which exacerbate these diseases as well as in some molecular routes shows a potential relation between both pathological entities.

**KEYWORDS:** asthma; obesity; inflammation; adipokines; hypoxia

<sup>1</sup> Unidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina.

Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

Recibido: 27 de noviembre 2015

Aceptado: 8 de enero 2016

### Correspondencia

Dra. Gloria Bertha Vega Robledo  
gloriavr@liceaga.facmed.unam.mx

### Este artículo debe citarse como

Vega-Robledo GB, Huerta-Gutiérrez de Velasco R, Rico-Rosillo G. Factores comunes e inductores de inflamación en asma y obesidad. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):41-57.

## ANTECEDENTES

La incidencia de asma y de obesidad aumentaron mundialmente en fechas recientes, convirtiéndose en problemas de salud pública.<sup>1</sup> Ante la evidencia epidemiológica que sugiere una relación entre ambos padecimientos<sup>2</sup> se hace necesaria la investigación básica con el fin de encontrar vínculos fisiopatológicos.

Además de una posible relación causal directa, se han señalado otras asociaciones, como la eficacia del tratamiento contra el asma, su severidad y la obesidad. Aun cuando la relación con la inflamación no se ha identificado totalmente,<sup>3</sup> se ha visto que el control de la obesidad influye en el alivio de los síntomas asmáticos.<sup>4</sup> Acorde con lo anterior, para su tratamiento y control resulta esencial el conocimiento de los fundamentos básicos que puedan ligar a esta enfermedad con la obesidad. Esta revisión tiene como objetivo mostrar diferentes hipótesis que pretenden explicar una posible relación fisiopatogénica entre el asma y la obesidad.

### Obesidad

La obesidad es el depósito excesivo de grasa en el organismo, como consecuencia del desequilibrio entre los ingresos energéticos y la actividad física. Se relaciona con el índice de masa corporal (IMC), que es el criterio más utilizado para definirla. Al respecto, se considera que un IMC igual o mayor a 30 corresponde a obesidad y de 25 a 29.9 corresponde a sobrepeso.

Los estudios efectuados en 17 países, entre ellos México, reportan una prevalencia de obesidad de 4.5 a 32%. Estados Unidos, con 32% de adultos obesos y con sobrepeso, ocupa el primer lugar en el mundo, México el segundo lugar y el primero en mujeres con obesidad. En México, 71% de los adultos mayores de 20 años tiene obesidad o sobrepeso, de acuerdo con los datos obtenidos en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012.<sup>5</sup>

Este aumento se asocia con cambios socioeconómicos, tecnológicos y familiares, favorecedores del sedentarismo y conducentes al equilibrio energético positivo.

### Asma

Es una enfermedad compleja que se distingue por hiperreactividad bronquial, inflamación de las vías aéreas y síntomas como sibilancias, tos y disnea, relacionados con la obstrucción intermitente del flujo aéreo. Estas alteraciones inflamatorias, al tornarse crónicas, pueden causar remodelación de las estructuras broncopulmonares.

La prevalencia del asma en el mundo varía ampliamente: de menos de 5% de la población en Grecia a más de 25% en Australia y Nueva Zelanda. En México se registra una prevalencia entre 5 y 7% y constituye una de las 10 primeras causas de utilización de los servicios de salud por los adultos.<sup>6</sup>

En niños y adultos el asma está estrechamente relacionada con el índice de masa corporal y algunos estudios indican que esta relación se observa con mayor frecuencia en mujeres que en hombres. Señalan también que el índice de masa corporal se correlaciona directamente con la función pulmonar y la disminución de peso, con su mejoría.<sup>7</sup>

Cuando la obesidad y el asma coexisten provocan daños individuales, económicos y sociales severos. Ambas enfermedades parecen estar ligadas por diversos mecanismos que incluyen, entre otros: exposiciones comunes, factores genéticos, hormonales, inflamación y comorbilidad.<sup>8</sup>

### Genética

Varios alelos se han asociado con el asma y la obesidad, por lo que la interacción de estos genes, de acuerdo con la función de las proteínas que codifican, ofrece diferentes explicaciones

causales comunes para estas dos enfermedades. El polimorfismo TNF- $\alpha$ -308 del gen que codifica para el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) está implicado en ambas enfermedades, así como el Gln27->Glu del receptor  $\beta$ 2-adrenérgico. El polimorfismo -2549T/G (rs2167270) del gen que codifica a la leptina se asocia con el asma y con un índice de masa corporal elevado.<sup>9</sup> Además, se han descrito algunos alelos del receptor de la vitamina D y su relación con el asma<sup>10</sup> y con la obesidad.<sup>11</sup>

Algunos genes vinculados con la inflamación e implicados en el equilibrio energético se heredan juntos por su cercanía cromosómica, como los de las proteínas desacoplantes 1 y 2 (UCP1, UCP2) y el del receptor beta de la inmunoglobulina E; ambos localizados en la posición 11q13. Otras regiones cromosómicas en las que hay genes para asma y trastornos metabólicos relacionados con obesidad son las porciones 12q, 5q y 6p. Al respecto, se han efectuado estudios de asociación del genoma completo; uno realizado por Melen,<sup>12</sup> que no mostró asociaciones entre asma y obesidad, y otro señalado por Tesse, en el que revisó y comparó diversos análisis genéticos y encontró señales traslapadas de locus en 3q, 4q, 5q, 6p, 7q, 11p, 16q, 17q, 18q y 22q<sup>13</sup> para asma, diabetes y obesidad.

### Exposiciones comunes

Desde que se planteó la hipótesis de la higiene, las exposiciones en la vida temprana a modificadores de la respuesta inmunitaria, como la alimentación, y las infecciones se han considerado importantes en la patogenia del asma. El asma y la obesidad pueden iniciar en la infancia, las exposiciones comunes que predisponen a los individuos a estas dos condiciones explican algunos vínculos entre ellas. Las dos enfermedades están sujetas a elementos comunes, como la alimentación, la nutrición materna, el peso al nacer, el aumento de peso durante la infancia, los patrones de la microbiota intestinal, el ejercicio y las concentraciones altas de adipocinas.<sup>14</sup>

### Embarazo y prematuridad

En estudios recientes se ha visto que el aumento de peso durante el embarazo predispone a los hijos a padecer asma.<sup>15</sup> En mujeres con y sin embarazo, el incremento en el índice de masa corporal se relaciona con el aumento en las concentraciones de leptina; los receptores para leptina están presentes en el pulmón fetal y pueden contribuir al desarrollo de este órgano en el útero.

La privación de alimento *in utero* y el bajo peso al nacer, así como la prematuridad, son factores considerados predisponentes para padecer obesidad en la adultez. Una madre mal nutrida, que no acumula las grasas necesarias en cantidad y en calidad, tiene más probabilidades de dar a luz un niño con bajo peso. La dieta durante el primer trimestre del embarazo es fundamental porque este periodo se llama de "programación fetal", lo que se refiere a las alteraciones genéticas producidas por la mala nutrición materna y por todas las agresiones que sufre el feto o el recién nacido y que se manifestarán en el desarrollo posnatal y durante toda la vida del producto.<sup>16</sup>

Al respecto, en estudios realizados en los descendientes de personas que sufrieron hambre en Holanda durante la segunda Guerra Mundial, se observó que los niños que nacieron con bajo peso mostraron en la vida adulta una significativa incidencia de obesidad y síndrome metabólico, en comparación con los descendientes de la población que no sufrió hambre.<sup>16</sup>

### Vitaminas y antioxidantes

#### Vitamina D

Está implicada en el asma grave resistente al tratamiento y en la obesidad. Algunos estudios señalan que las concentraciones séricas de esta vitamina se relacionan inversamente con la severidad del asma y directamente con el

control de la enfermedad. La vitamina D participa en el sistema inmunitario innato y en el adaptativo. En el primero, además del efecto modulador de la vitamina en la inflamación de las mucosas, su disminución se asocia con incremento en la expresión del TNF- $\alpha$ , citocina proinflamatoria participante en el asma y la obesidad. En el sistema adaptativo, induce la diferenciación y modula la función de células T reguladoras productoras de TGF- $\beta$  e IL-10,<sup>17</sup> citocinas antiinflamatorias que mejoran la respuesta a glucocorticoides en individuos resistentes.<sup>18</sup>

En niños obesos se han detectado concentraciones séricas de vitamina D más bajas que en los de peso normal y sus concentraciones se correlacionaron negativamente con el índice de masa corporal.<sup>19</sup>

#### Antioxidantes

El potencial de los antioxidantes provenientes de la dieta, como las vitaminas C, A y E, en la aparición del asma continúa en estudio porque los resultados hasta el momento son contradictorios.<sup>20</sup> Las concentraciones de los antioxidantes mencionados se han encontrado disminuidas en la sangre de pacientes obesos. Varios estudios establecen una asociación entre la obesidad y la escasa ingestión de antioxidantes, sus concentraciones plasmáticas bajas y algunos cambios en la actividad de las enzimas antioxidantes.<sup>21</sup>

Alan y colaboradores señalaron que la vitamina E protege contra la lipoperoxidación y ejerce una función de depuración al inactivar a varias especies reactivas de oxígeno, como HO, O<sub>2</sub><sup>-</sup> y O<sub>2</sub>, que aumentan en la obesidad y el asma. Algunos estudios demuestran que la deficiencia de vitamina E durante el embarazo aumenta el riesgo del producto de padecer enfermedades alérgicas, principalmente asma.<sup>22</sup>

#### Microbiota

La población microbiana participa en la madurez de la barrera mucosa y de tejidos inmunitarios, así como en la tolerancia a los alimentos. La dieta se ha asociado con enterotipos humanos: *Bacteroides* cuando es alta en proteínas y grasas saturadas y *Prevotella* con dieta baja en proteína y grasas, pero elevada en carbohidratos y azúcar simple.<sup>23</sup>

La presencia, composición y acciones metabólicas de la flora intestinal pueden influir de manera importante en el metabolismo energético en ratones y humanos. La microbiota aumenta el almacén de energía del hospedero a través de la hidrólisis y fermentación de polisacáridos de la dieta que él no puede digerir. La fermentación microbiana genera monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta que pueden ser absorbidos y utilizados como energía por el hospedero.<sup>24</sup>

La microbiota y algunos receptores celulares para patrones moleculares asociados con patógenos (PAMP'S), como los TLR (del inglés: *toll-like receptors*)-2, son necesarios para el desarrollo de células T reguladoras. Cuando la microbiota comensal pasa a la lámina propia de manera transitoria y en baja cantidad, estimula la formación de células T reguladoras y con ello protege al intestino de la inflamación. Por el contrario, cuando el epitelio intestinal está dañado y permite el paso de una gran cantidad, la microbiota genera mayor inflamación.<sup>25</sup>

En animales obesos, la permeabilidad del intestino y las concentraciones séricas de lipopolisacáridos son mayores, lo que podría originar o ser una fuente constante de señales inflamatorias.

Los estudios en animales a los que se les indujo un incremento intestinal de bifidobacterias mostraron una correlación positiva con mejoría en la tolerancia a la glucosa y normalización de los bajos niveles de inflamación.<sup>26</sup>

Estudios epidemiológicos en niños y adolescentes señalan fluctuaciones en la flora del tubo gastrointestinal cuando se asocia con obesidad y su reestructuración al bajar de peso. En niños preescolares con sobrepeso encontraron aumento significativo de *Enterobacteriaceae* y disminución de *Desulfovibrio*.<sup>27</sup>

En adultos sanos predominan los enterotipos *Bacteroides*, *Prevotella* y *Firmicutes*. Se ha tratado de asociar diversos patrones de colonización bacteriana del intestino con la obesidad; así, varios autores encontraron un número reducido de *Bacteroides* y más consistentemente un incremento de *Firmicutes*.<sup>28</sup> Los pacientes con asma también tienen menor cantidad de *Bacteroides*, pero mayor proporción de *Clostridium difficile*.

Lo señalado ha generado un marcado interés en el estudio de las posibles aplicaciones terapéuticas de los probióticos en estas dos enfermedades.<sup>29</sup>

### **Hormonas e interacción endocrinológica**

#### *Estrógenos y progesterona*

Estudios epidemiológicos apuntan a una relación más fuerte entre asma y obesidad según el género y la mayor parte señala el predominio en mujeres; incluso Chen y colaboradores denotan la ausencia de esta relación en los hombres.<sup>30</sup> Al respecto, un estudio realizado en el servicio de Alergia del Hospital General de México mostró que 71% de los pacientes asmáticos tuvieron peso superior al normal, de los que 33% pertenecía al sexo masculino y 77% al femenino.<sup>31</sup>

Lo anterior podría estar relacionado con efectos del estrógeno y la progesterona en el sistema inmunitario, como el establecimiento de una respuesta Th2 y la inhibición de la apoptosis de estos linfocitos. Algunos autores señalan que los estrógenos aumentan la producción de las

citocinas IL-4 e IL-13 en células mononucleares periféricas.<sup>32</sup> Estas citocinas son inductoras de la respuesta Th2, por lo que la mayor liberación puede incrementar la actividad alérgica.

En mujeres posmenopáusicas los estrógenos exógenos administrados como terapia de reemplazo hormonal se asocian con incremento del riesgo de padecer asma.<sup>33</sup>

Los estrógenos, que están aumentados en la obesidad, pueden modular la respuesta de las células inflamatorias de las vías aéreas. Por el contrario, la progesterona, que favorece la relajación de las vías aéreas, está disminuida en este padecimiento.

Algunos autores señalan que la masa magra total se asocia más estrechamente con el asma que la masa de grasa total, lo que sugiere que la grasa ectópica dentro de los tejidos magros puede participar de manera importante en la asociación obesidad-asma en mujeres.<sup>34</sup>

El tejido adiposo es un importante sitio extragonadal productor de estrógenos, sobre todo en obesos. En la obesidad, los estrógenos pueden generarse también a partir de andrógenos y de esteroides en el tejido adiposo. La androstenediona y otros andrógenos adrenales son convertidos a estrona (E1) por la aromataasa en el tejido adiposo; a partir de la estrona se forma el estrógeno biológicamente más activo, el 17 $\beta$ -estradiol (E2), que regula la lipólisis y estimula la proliferación de preadipocitos en el tejido adiposo y que, en la circulación, se puede transformar en partículas de lipoproteínas de alta densidad. En hombres obesos también aumentan E1 y E2.<sup>35</sup>

En ratones, los estrógenos y sus receptores en los adipocitos regulan la distribución, expansión, inflamación y fibrosis del tejido adiposo, así como la homeostasia de la glucosa.<sup>36</sup> En mujeres con ooforectomía aumenta el peso y el depósito de tejido adiposo intraabdominal, lo que disminuye

con la terapia de reemplazo con estrógenos y mejora la homeostasia de la glucosa.<sup>37</sup> La disminución del peso podría contrarrestar el riesgo de las pacientes de padecer asma por el efecto de esta hormona.

### Corticoesteroides

En pacientes asmáticos tratados con corticoesteroides, la producción hormonal puede encontrarse aún más alterada debido a que en el tejido adiposo estimulan la formación de estrógenos, la transformación de células precursoras en adipocitos e inhiben la expresión génica de la adiponectina, adipocina antiinflamatoria que está disminuida en asmáticos con obesidad.<sup>38</sup>

#### *Respuesta al tratamiento con corticoesteroides*

Los glucocorticoides son inmunomoduladores prescritos en el tratamiento del asma y en los pacientes asmáticos obesos la respuesta a estos fármacos disminuye o está ausente.<sup>39</sup> Sin embargo, la acción de los glucocorticoides es muy amplia y la comparación con otros agentes inmunomoduladores resulta útil. Se ha observado la falta de respuesta a los glucocorticoides, pero no a bloqueadores de receptores de los leucotrienos, y mientras que la eficacia de la beclometasona se relaciona inversamente con el índice de masa corporal, la de antileucotrienos aumenta de manera paralela, no obstante el aumento en la concentración de leucotrienos B<sub>4</sub> (LB<sub>4</sub>) encontrado en pacientes con obesidad y asma.<sup>40</sup> Aun cuando los leucotrienos estén aumentados en individuos asmáticos obesos, su unión con los antileucotrienos es factible y, por tanto, la inflamación originada por esta vía puede bloquearse. En tanto que los blancos, los receptores (o ambos) utilizados por los corticoesteroides pueden estar alterados, lo que impediría su acción en ellos y, por ende, su función antiinflamatoria, como sería el caso de receptores o de enzimas, como la desacetilasa de histona.

Con el fin de encontrar la causa de la disminución de la eficacia del tratamiento en relación con el aumento en el índice de masa corporal, se ha propuesto una posible relación entre la producción aumentada de TNF- $\alpha$  e IL-6 por los macrófagos activados de manera clásica (inflamatoria) durante la obesidad y la pérdida de sensibilidad de los receptores de glucocorticoides.<sup>41</sup> Debido al efecto de los corticoesteroides en la desacetilación de histonas, también se ha propuesto una pérdida de la expresión y actividad de la histona desacetilasa como mecanismo de resistencia a los corticoesteroides, causada por el daño oxidativo propio del asma.<sup>42</sup> Los aniones superóxido y el peroxinitrito bloquean la actividad enzimática de la HDAC 2 y la marcan para ubiquitinación y destrucción por el proteasoma.

Las deacetilasas (HDAC) de histonas normalmente reprimen la expresión de genes inflamatorios, de manera que al haber pérdida de la función de esta enzima, el efecto que el corticoesteroide ejercería en ella no se logra y la inflamación no cede.

Algunos estudios señalan que la eferocitosis o eliminación de células apoptóticas por macrófagos de las vías aéreas o monocitos sanguíneos está alterada en los pacientes asmáticos obesos y se correlaciona inversamente con la respuesta a glucocorticoides.<sup>43</sup>

### Inflamación

Una de las principales causas de la inflamación en el asma es la reacción alérgica, ocasionada por el contacto con elementos desencadenantes. En ella, hay una hiperrespuesta de las vías respiratorias y la inflamación se distingue por infiltrado de eosinófilos y linfocitos Th<sub>2</sub>. La inflamación en el asma puede ser inducida también por mecanismos no alérgicos.

En ambos casos, la liberación de mediadores inflamatorios y citocinas tiene como origen a



células, como las epiteliales, los macrófagos y particularmente las cebadas, que son activadas por inductores: IgE principalmente en alergia o lipopolisacáridos, factores del complemento (C3a, C5a), restos de tejidos, etcétera, como desencadenantes de inflamación no alérgica, a los que se suma la eferocitosis fallida.

Aunque el asma es un trastorno inflamatorio de las vías aéreas que involucra a células de la respuesta inmunitaria, hay evidencias del papel tan importante que tiene el epitelio en orquestar la respuesta inflamatoria, por su interacción con múltiples factores ambientales, como alérgenos, gérmenes y contaminantes.<sup>44</sup> Así, se ha observado que las proteasas derivadas de los alérgenos inducen ruptura en las uniones de las células epiteliales de las vías aéreas y activan a los receptores ubicados en la superficie de estas células. Al pasar por las capas epiteliales pueden aumentar su alergenicidad, activar al sistema inmunitario o ejercer ambas acciones.

Algunas evidencias indican que el epitelio, como barrera física y funcional de las vías aéreas, es deficiente en asmáticos; se encuentra con uniones dañadas, actividad antioxidante disminuida e inmunidad innata alterada. Esta deficiencia epitelial permite con mayor facilidad el paso de sustancias inhaladas a las vías respiratorias, donde interactúan con células inflamatorias e inmunitarias, lo que explica la gran susceptibilidad de las vías aéreas de asmáticos a estímulos infecciosos o por contaminantes y su relación con la exacerbación de la enfermedad.

En la obesidad, la inflamación es de baja intensidad, pero crónica. El tejido adiposo, principalmente la grasa visceral, se ha señalado como fuente de citocinas, quimiocinas, adipocinas<sup>45</sup> y otras proteínas, como la C reactiva, lo que aunado al hallazgo de la infiltración de macrófagos y otras células en ese tejido durante la obesidad, señala a esta condición como favo-

recedora de la inflamación. Las concentraciones sistémicas elevadas de marcadores inflamatorios, como IL-1, IL-6, TNF y proteína C reactiva en estos pacientes apoyan esta aseveración.<sup>46</sup>

Aun cuando el tejido adiposo es, en este caso, el órgano central de la inflamación, las secuelas afectan al resto del organismo e inciden importantemente en el páncreas, el músculo, el sistema nervioso, el intestino y el hígado.

A través de la vena porta llegan a este órgano ácidos grasos y adipocinas procedentes del tejido adiposo visceral. Cuando hay un exceso, se altera la producción de citocinas inflamatorias, lo que participa en la génesis de la esteatosis. La inflamación hepática repercute de manera importante en el metabolismo y la patogénesis de otros órganos.

Si bien hay una fuerte evidencia epidemiológica de la asociación entre asma y obesidad, el mecanismo que une a estas dos condiciones permanece poco definido. A continuación se señalan algunos factores como posibles causas de inflamación en ambos padecimientos.

### Inflamación por nutrientes

Se hipotetiza que durante el ciclo ayuno-alimento hay una respuesta inflamatoria mínima, inducida por los nutrientes en los tejidos implicados en su metabolismo, como el adiposo, hepático, pancreático, muscular; la respuesta finaliza cuando se metabolizan. En la obesidad por sobrealimentación hay un estímulo constante en estos sitios por captación de alimentos, lo que activa una respuesta inflamatoria; esta actividad de bajo nivel se acumula y amplifica con las exposiciones frecuentes a nutrientes, lo que empieza a alterar caminos metabólicos (JNK, del inglés: *c-jun N-terminal kinase*; PKR, del inglés: *protein kinase R*; NFkB, del inglés: *nuclear factor kappa B*, entre otros), que pueden alertar a las

células inmunitarias para que participen en la inflamación.

JNK antagoniza señales del receptor para insulina y disminuye a PPAR-g (del inglés: *peroxisome proliferator-activated receptor*), que disminuye la producción de adiponectina y es un inductor y regulador clave en el proceso de diferenciación adipogénica.

La proteína STAMP-2 (del inglés: *six transmembrane protein of prostate 2*) aumenta en el tejido adiposo durante la alimentación y tiene propiedades antiinflamatorias en respuesta a la estimulación por nutrientes; si se altera STAMP-2 hay inflamación al contacto del adipocito con alimentos.<sup>47</sup>

Otra hipótesis indica que los alimentos normalmente no son inflamatorios, pero que en exceso pueden activar vías confinadas a patógenos y que los sensores o receptores (PRR, del inglés: *pattern recognition receptor*) para PAMP's pueden sentir nutrientes, principalmente carbohidratos y grasas.

### Ácidos grasos

En los adipocitos también están presentes los PRR's tipo Toll (TLR) 2 y 4 y los "basurero" (*scaenger*), que pueden ser activados por ácidos grasos saturados (la ausencia de PRR's protege a modelos animales contra la obesidad).<sup>48</sup> Sin embargo, la expresión de TLR-4 no se encontró distinta en pacientes con asma y obesidad. Las vías de señalización utilizadas por los TLR activan al NFκB que sobrerregula la expresión de citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6, TNF), así como la respuesta a la glucosa<sup>49</sup> al inducir resistencia a la insulina. Células como las cebadas y las epiteliales expresan TLR 2, 3 y 4, que median su activación. Algunos autores mencionan que la sobreexpresión de TLR-4 y 2 en células endoteliales de ratones aumenta la aterosclerosis.

Otros PRR's participantes son los NLR (del inglés: *nod like receptor*) a través del inflamasoma. Este sensor intracelular inicia inflamación activa a la caspasa 1 para que se produzcan citocinas proinflamatorias (IL-1, 18, 33). Está conformado por varias proteínas de la familia NLR, principalmente NLRP3. Esta proteína y el factor inductor de su expresión NFκB pueden ser estimulados por distintos elementos y vías además del TLR, entre los que se encuentran: especies reactivas de oxígeno, desestabilización del lisosoma, cristales de colesterol, hiperglucemia, ácido úrico y lipopolisacáridos.<sup>50</sup>

Se ha encontrado que la reducción de la expresión del inflamasoma NLRP3 en adipocitos, inducida por una dieta restringida en calorías y el ejercicio disminuye la inflamación. Este sensor de daño también es necesario para el desarrollo de una respuesta Th2 en el modelo murino de asma inducido por ovalbúmina.<sup>51</sup> Además de lo referido, en relación con la activación de los PRR, la toxicidad de los ácidos grasos se manifiesta también como daño celular.

### Daño celular

Cuando se incrementa el ingreso de ácidos grasos al tejido adiposo hay hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos. El crecimiento excesivo puede llegar a producir necrosis de la célula. Los restos provenientes de células que mueren por necrosis son quimioatrayentes, lo que aumenta la llegada de células al sitio del daño y la polarización del macrófago al fenotipo inflamatorio. Además de causar necrosis y apoptosis, la sobredistensión celular aumenta el volumen tisular sin generación simultánea de vasos sanguíneos, lo que limita su perfusión y ocasiona hipoxia local. Esto, aunado a la toxicidad inducida por los ácidos grasos, exacerba lo señalado y origina en el resto del tejido disfunción de los constituyentes celulares, entre otros, del retículo endoplasmático y la mitocondria.<sup>52</sup>

### Hipoxia

El estado de la tensión parcial de oxígeno baja produce la inhibición de la degradación proteosómica del factor inducible por hipoxia 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) que se heterodimeriza con el HIF $\beta$ . Este heterodímero se une a promotores de genes y ocasiona la transcripción de moléculas proinflamatorias, entre las que se encuentran la leptina, la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), el factor inhibidor de la migración del macrófago (MIF) y la proteína semejante a angiopoyetina 4,<sup>53</sup> así como moléculas implicadas en la angiogénesis, la glucólisis, la remodelación de la matriz extracelular, la diferenciación celular y la apoptosis.

También se ha señalado que la hipoxia inhibe a la adiponectina, molécula antiinflamatoria, lo que repercutiría en este proceso. La expresión de IL-6 es sensible a la hipoxia, pero no depende de HIF-1, mientras que el efecto de la hipoxia en la expresión de TNF- $\alpha$  aún es contradictorio.<sup>54</sup> La hipoxia del tejido adiposo podría agravarse por la baja concentración de oxígeno que se observa en los obesos asmáticos. Además, la hipoxia local del epitelio alveolar aumentaría la polarización celular de los linfocitos hacia Th2,<sup>55</sup> favorecedores de alergia.

### Estrés oxidativo

Algunos autores señalan que los macrófagos infiltrados en el tejido adiposo incrementan la producción de NADPH-oxidasa que genera especies reactivas de oxígeno. Cuando la producción de éstas es mayor que la capacidad de los antioxidantes enzimáticos (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etcétera) o no enzimáticos (vitaminas A, C y E, minerales como el cinc y el cobre o carotenoides como el licopeno) se produce la oxidación de biomoléculas o estrés oxidativo, que promueve el daño de estructuras celulares, como el retículo endoplasmático, las mitocondrias y la membrana.

Así, de la peroxidación lipídica generada por el efecto de las especies reactivas de oxígeno en los lípidos de la membrana celular se originan isoprostanos inflamatorios, como las PGE, D, F y mayormente la 8 isoprostaglandina F2a, considerada marcador de daño oxidativo asociado con trastornos metabólicos.

El aumento de biomarcadores de estrés oxidativo en individuos obesos se adjudica a factores intrínsecos de la enfermedad; es decir, a su cualidad de enfermedad crónica inflamatoria y a cuestiones conductuales, como el bajo consumo de antioxidantes y el poco ejercicio. Además, las comorbilidades de la obesidad también se asocian con estrés oxidativo.<sup>56</sup> Aunque el estrés oxidativo propio del asma parece no ser aditivo, éste podría favorecer una respuesta Th2 mediante la reducción de la producción de IL-12, además de disminuir la efectividad de los corticoesteroides.

### Estrés del retículo endoplasmático

En la obesidad, la expansión del tejido adiposo y la consecutiva disminución de la irrigación sanguínea ocasionan, además de necrosis y apoptosis, daño o estrés del retículo endoplasmático en adipocitos; el daño en este organelo se observa también en hepatocitos, debido al aumento de ácidos grasos procedentes de la circulación y del tejido adiposo abdominal.<sup>57</sup>

Normalmente, en el retículo endoplasmático se forman y pliegan las proteínas. El estrés del retículo endoplasmático se determina por la producción de proteínas no plegadas (relacionadas con alteraciones en el calcio inducidas por diversos elementos como isquemia y especies reactivas de oxígeno); al ser detectadas se produce una respuesta (UPR: *unfolded protein response*) para restablecer la función del retículo endoplasmático, que es manejada por tres moléculas: PERK (del inglés: *protein ki-*

nase *RNA-like endoplasmic reticulum kinase*), IRE-1 (del inglés: *inositol-requiring enzyme*) y ATF-6 (del inglés: *activating transcription factor*). Estas moléculas actúan como sensores transmembranales de estrés del retículo endoplasmático y favorecen la restauración de las proteínas no plegadas. Si el estrés es muy severo o prolongado, la UPR no lo puede corregir y se estimulan vías de apoptosis, de inflamación o ambas.

En enfermedades crónicas como el asma resulta importante determinar si los factores genéticos pueden alterar el plegamiento de las proteínas en este organelo; al respecto se ha descrito la molécula producto del gen ORMDL3 (del inglés: *orosomucoid like protein isoform*) asociada con asma, alteraciones del calcio en el retículo endoplasmático y producción de proteínas no plegadas.<sup>58</sup> ORMDL3 es un gen inducible por alérgenos o citocinas como las IL-4 y 13, se expresa en el retículo endoplasmático del epitelio bronquial y se ha identificado como un gen de susceptibilidad al asma; en ratones se ha observado, además, que promueve el tráfico de eosinófilos, su activación y desgranulación por regulación de integrinas.<sup>59</sup> ORMDL3 inhibe a la proteína SERCA (del inglés: *sarcoendoplasmic reticulum calcium transport ATPase*); la disminución de esta proteína favorece el estrés del retículo endoplasmático y la apoptosis celular; su expresión está disminuida en el músculo liso de las vías aéreas en el asma, lo que también puede deberse a las citocinas liberadas durante el proceso inflamatorio.<sup>60</sup>

### Disfunción mitocondrial

Los elementos inductores de especies reactivas de oxígeno producen disfunción mitocondrial en el epitelio aéreo, lo que induce inflamación severa en individuos alérgicos. En el infiltrado inflamatorio, en el asma, aumenta la molécula 12/15-*lox* que induce la secreción de meta-

bolitos del ácido linoleico (13-S-HODE), que por activación del TRPV (del inglés: *transient receptor potential cation channel, subfamily-V*) alteran la homeostasia del calcio, catión que al aumentar en la mitocondria induce su disfunción. Las mitocondrias disfuncionales producen especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo, que pueden estimular al inflammasoma.<sup>61</sup>

En la obesidad, una dieta elevada en grasas disminuye en el tejido adiposo la expresión y función del transportador TSPO (del inglés: *translocator protein 18 kDa*).<sup>62</sup> Esta molécula introduce colesterol a la mitocondria, en donde la proteína llamada STAR lo convierte en pregnenolona (precursor de las hormonas esteroideas). El transportador TSPO en la mitocondria regula la producción de ATP y especies reactivas de oxígeno e interviene en la apoptosis.

HSP60 (del inglés: *heat shock protein*) es una proteína mitocondrial esencial para la integridad de este organelo y la viabilidad celular. Regula el plegamiento de proteínas en la mitocondria y la apoptosis; cuando hay estrés celular aumenta su producción y puede ser exocitada o expresada en la superficie para establecer contacto con células del sistema inmunitario. En el hipotálamo de ratones obesos se ha observado que al disminuir la chaperona mitocondrial Hsp60 se produce disfunción mitocondrial y estrés oxidativo, lo que induce resistencia a la insulina y a la leptina; también se observó disminuida en cerebros de humanos diabéticos,<sup>63</sup> obtenidos por autopsia.

### Migración y activación celular

#### Macrófagos

La leptina producida en exceso en la obesidad y en el asma induce la expresión de moléculas de adhesión que actúan en colaboración

con MCP-1(CCL-2) para inducir la migración de macrófagos.<sup>49</sup> Otras moléculas implicadas en la migración de los macrófagos son la osteopontina,<sup>64</sup> la IL-8 (CXCL8) y las citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$  producidas por los adipocitos, además de las sustancias liberadas por la necrosis de estas células.<sup>49</sup>

La infiltración de los macrófagos es más intensa en el tejido blanco visceral que en el subcutáneo. Mientras que los macrófagos del tejido adiposo de individuos no obesos están activados de manera antiinflamatoria (M-2), los de pacientes obesos a su llegada y por acción de elementos como derivados de nutrientes, restos celulares y citocinas, cambian al fenotipo M-1 que secreta moléculas inflamatorias, mismas que favorecen la resistencia a la insulina en los adipocitos.<sup>49,65</sup>

#### *Linfocitos*

La expansión del tejido adiposo en obesidad se distingue, además, por la participación del sistema inmunitario adaptativo. Hay un cambio de fenotipo de los linfocitos T y reclutamiento de B y T (con predominio de CD8), favorecido por la quimiocina CCL-5, también conocida como RANTES (del inglés: *regulated on activation normal T cell expressed and secreted*),<sup>66</sup> que es liberada por células inflamatorias, como las cebadas.

Los TCD4, al ser activados por células locales, producen citocinas y quimiocinas, lo que favorece la infiltración de los macrófagos. Se ha señalado, incluso, que la acumulación de células T CD8+ precede a la infiltración de macrófagos en modelos de obesidad inducida por alimento.<sup>67</sup>

En la obesidad hay disminución en el tejido adiposo de linfocitos NKT, que a través de citocinas regulan la respuesta inmunitaria local. Disminuyen también los CD4 CD25-FoxP3, supresores de

la respuesta inflamatoria y de la activación de los linfocitos. Lo señalado traduce la disregulación de la respuesta inmunitaria que ocurre en el tejido adiposo, que es considerado órgano central de la inflamación en obesidad; sin embargo, las secuelas resultantes son sistémicas. De manera similar, las células CD4CD25 FoxP3 circulantes están disminuidas en el individuo asmático.<sup>68</sup>

#### *Mastocitos y fibroblastos*

Los precursores hematopoyéticos del tejido adiposo pueden dar origen a mastocitos,<sup>69</sup> mismos que, además de participar como células fagocíticas, tienen un papel esencial en la inflamación. Estas células progenitoras se han propuesto como las posibles causantes de las diferencias entre la hiperreactividad bronquial en modelos animales obesos y no obesos.<sup>69</sup> En la obesidad aumenta el número de células cebadas que amplifican la inflamación y de fibroblastos, que además de secretar colágeno, liberan citocinas inflamatorias participantes en la producción de eosinófilos y otros granulocitos.<sup>70</sup> Las células cebadas son inductoras esenciales de la inflamación en el asma; a su vez, los fibroblastos, en asma crónica, participan de manera importante en la fibrosis y la remodelación.<sup>70</sup>

#### **Remodelación**

En el asma, simultánea o consecutiva a la inflamación crónica, hay cambios estructurales que involucran a la composición y la organización de constituyentes celulares y moleculares de la pared bronquial. Estos cambios se distinguen en términos histopatológicos por: lesión epitelial, engrosamiento o fibrosis subepitelial, hipertrofia e hiperplasia de células caliciformes con hipersecreción mucosa, hiperplasia del músculo liso y remodelación vascular o angiogénesis.

Múltiples factores participan en la remodelación: fibroblastos, miofibroblastos, eosinófilos,

histamina, triptasa, IL-13, factor transformante de crecimiento (TGF)- $\beta$ , entre otros. Los cambios histopatológicos de la remodelación se asocian con hiperreactividad persistente de las vías aéreas, estrechamiento y finalmente, obstrucción.<sup>70</sup>

Poco se sabe acerca del efecto de la obesidad en la remodelación pulmonar por asma. Al respecto, un estudio realizado en ratones sanos y obesos retados con OVA mostró en los obesos un aumento en las fibras de colágeno de las vías aéreas y el parénquima pulmonar, actina de músculo liso en los bronquiolos terminales y conductos alveolares, así como de eosinófilos en lavado bronquial, al ser comparados con los no obesos.<sup>71</sup>

### Adipocinas

El tejido adiposo secreta adipocinas con actividad proinflamatoria, como la leptina y la visfatina, o antiinflamatoria como la adiponectina, que funcionan como redes de señalización que comunican al tejido adiposo con diferentes órganos (cerebro, hígado, linfoides, etc.) y participan, además de la inflamación, en el metabolismo.<sup>72</sup> Parecen ser importantes mediadores en la enfermedad de las vías aéreas en obesidad a través de efectos directos en ellas, más que por aumentar su inflamación.

#### Leptina

Entre otras células, es sintetizada por las del tejido adiposo, macrófagos, neuronas, linfocitos Th1 y expresan receptores para ella, las células epiteliales, pulmonares, macrófagos, linfocitos, neuronas, etcétera. Inhibe la producción de adiponectina, es proinflamatoria, aumenta en la obesidad y participa en el asma bronquial. Algunos estudios en niños muestran que aumenta en asmáticos no obesos, pero su incremento es mayor en los obesos.<sup>73</sup>

#### Adiponectina

Es sintetizada por el tejido adiposo visceral e inhiben su producción el TNF, la leptina, los corticoesteroides y la hipoxia. Tiene actividad antiinflamatoria y guarda una relación inversa con la masa del tejido adiposo y la edad. Disminuye en humanos obesos y en pacientes con resistencia a la insulina.

### Hiperreactividad de la vía aérea

Una característica esencial del asma es la hiperreactividad de la vía aérea, que consiste en mayor sensibilidad de las células musculares lisas de la vía aérea ante un agonista constrictor. Se han realizado múltiples estudios en humanos para dilucidar si la obesidad aumenta la hiperreactividad de la vía aérea en niños y adultos, pero las pruebas no son concluyentes. No obstante, un estudio en pacientes obesos y asmáticos antes y 12 meses después de la cirugía bariátrica mostró mejoría significativa en la respuesta a la metacolina, disminución de IgE, aumento de los linfocitos en el lavado bronquial y de los linfocitos CD4+ periféricos.<sup>74</sup>

En los modelos animales obesos, la hiperreactividad de la vía aérea que se observa no requiere el estímulo constrictor, sino que se expresa de manera innata. Se piensa que el TNF- $\alpha$  liberado desde el tejido adiposo puede ser, al menos en parte, el responsable. La leptina también podría tener relación con la disminución del flujo aéreo; sin embargo, no puede adjudicarse a ésta el efecto constrictor total debido a que los modelos de ratones *knock-out* para el receptor de leptina (*db/db*) también tienen hiperreactividad bronquial.<sup>75</sup> Al ser administrada de manera continua, esta hormona incrementa la hiperreactividad de la vía aérea después del reto con ovalbúmina, pero no produce un patrón de citocinas de células Th2 ni aumenta la eosinofilia.<sup>75</sup>

Se ha explorado la posibilidad de que la activación de TLR esté detrás de la hiperreactividad de la vía aérea causada por la leptina, porque en los modelos animales de exposición al ozono, en los que está demostrado que estos receptores están implicados,<sup>76</sup> hay aumento de citocinas inflamatorias. La vía aérea de los pacientes obesos muestra condiciones aumentadas de estrés oxidativo y, por tanto, los sensores de estrés del sistema inmunitario innato podrían ser activados.

Al respecto, las células asesinas naturales T (NKT) son capaces de detectar ciertos glicolípidos como desencadenantes de la hiperreactividad de la vía aérea, después de ser activadas por IL-33 proveniente de macrófagos.<sup>77</sup> En los pacientes obesos, los lípidos oxidados podrían activar esas células.<sup>78</sup> La hiperreactividad de la vía aérea en ratones obesos se asocia con células linfoides innatas ILC3 (del inglés: *innate lymphoid cells*) productoras de IL-17 en el pulmón. En lavados bronquiales de humanos con asma severa y obesidad también se obtuvieron células ILC3 y concentraciones aumentadas de IL-17.<sup>79</sup>

En lo referente a la participación de la adiponectina, antagonista de la leptina, en experimentos con ratones sensibilizados a ovoalbúmina se ha visto disminución de la hiperreactividad de la vía aérea, de los eosinófilos del lavado bronco-alveolar y de las citocinas Th2, cuando esta adipocina se administra mediante infiltración. A esta evidencia se suma el hallazgo de la hiperreactividad de la vía aérea aumentada en los ratones deficientes de adiponectina.<sup>80</sup> Más aún, la respuesta a metacolina de los ratones, tras ser sensibilizados con ozono, es mayor en los que tienen deficiencia de adiponectina.<sup>81</sup>

La limitación del flujo aéreo, como sucede al contraerse el músculo liso bronquial, provoca que las demás zonas del pulmón se expandan,

porque estas áreas reciben mayor proporción del volumen corriente. Esta expansión tensa al músculo liso y se suma a los problemas mecánicos de las vías aéreas que se comentan posteriormente.

### **Disfunción respiratoria**

Las alteraciones respiratorias relacionadas con la obesidad van desde la simple alteración de la función ventilatoria, sin consecuencias en el intercambio gaseoso, hasta la insuficiencia respiratoria hipercápnica característica del síndrome de obesidad hipoventilación.

En individuos obesos, la masa corporal modifica el equilibrio de fuerzas entre la pared del tórax, la del abdomen y el pulmón, hay disminución en la amplitud y el movimiento de la pared torácica y el diafragma, lo que disminuye la expansión basal inspiratoria del pulmón y la capacidad residual funcional. Algunos autores han observado anomalías en la resistencia y frecuencia en la oscilometría, a pesar del flujo normal detectado por espirometría, lo que sugiere una disfunción más distal.<sup>82</sup> El aumento en el índice de masa corporal está asociado directamente con el grado de resistencia de las vías aéreas y el trabajo respiratorio. La reducción en la capacidad residual funcional y el volumen de reserva espiratoria están asociados con un estrechamiento temprano de las vías aéreas; esto causa alteraciones en la ventilación-perfusión y consecuentemente hipoxia, lo que se exagera durante el sueño.<sup>83</sup>

### **Síndrome de apnea-hipopnea del sueño obstructiva**

Corresponde a episodios recurrentes de colapso faríngeo parcial o completo durante el sueño. En el evento obstructivo de las vías aéreas hay cambios cíclicos en O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> que generan hipoxemia e hipercapnia, con cambios de presión

intratorácica negativa progresiva. La secuencia de desaturación y reoxigenación origina estrés oxidativo y la producción de especies reactivas de oxígeno, mismas que activan leucocitos, aumentan moléculas de adhesión, inducen disfunción endotelial, liberación de citocinas e inflamación sistémica.<sup>84,85</sup> La apnea-hipopnea del sueño obstructiva está implicada en hipertensión sistémica y pulmonar, arritmias, infartos de miocardio y cerebrales.

Algunos mecanismos implicados en su origen son: a) el aumento de la grasa perilaríngea que incrementa la presión extraluminal sobre la vía aérea, b) las alteraciones anatómicas como la micrognatia y la hipertrofia del tejido amigdalino, c) la disminución del tono de los músculos laríngeos. Inicialmente los pacientes tienen ronquido, nicturia, boca seca al despertar, cefalea matutina y somnolencia.

El 40% de los pacientes con apnea-hipopnea del sueño obstructiva tienen obesidad, proporción que puede llegar a 90% en personas con índice de masa corporal superior a 40. Esto puede explicarse por factores mecánicos, aunque hay informes que asocian a la leptina con la inflamación faríngea. Algunos estudios señalan que la apnea-hipopnea del sueño obstructiva puede contribuir significativamente al mal control del asma en pacientes obesos, así como a la inflamación sistémica que padecen.

### **Síndrome de hipoventilación por obesidad**

El síndrome de hipoventilación por obesidad se manifiesta en ausencia de otras causas de hipoventilación (enfermedad pulmonar, debilidad neuromuscular, restricción esquelética, enfermedad pleural, hipotiroidismo) y se distingue por hiperpnea diurna, hipoventilación o apnea nocturna (o ambas), resistencia a la leptina, disfunción endotelial, inflamación sistémica.<sup>86</sup> Las respiraciones son superficiales, lo que conduce

a hipoxia crónica e hipercapnia, más acentuada por las mañanas, y cansancio con esfuerzos mínimos. Los obesos con hipoventilación crónica e hipercapnia con mayor frecuencia tienen hipertensión arterial, resistencia a la insulina, angina e insuficiencia cardíaca.

El 50% de los pacientes con obesidad severa (índice de masa corporal mayor de 50) tiene síndrome de hipoventilación por obesidad y la mayoría padece, además, apnea del sueño.<sup>87</sup>

### **Reflujo gastroesofágico**

Las personas con sobrepeso u obesidad tienen mayor riesgo de padecer la enfermedad por reflujo gastroesofágico y sus complicaciones, como cáncer o esofagitis grave. Lo anterior ocurre debido a que en la obesidad hay retraso en el vaciamiento gástrico e incremento de la presión intraabdominal. Asimismo, aumentan los episodios de relajación del esfínter esofágico inferior.

El ácido que escapa en el esófago inferior estimula al nervio vago, que a su vez activa a las vías aéreas inferiores que provocan espasmo bronquial. Además, el ácido regurgitado al alcanzar la boca puede ser aspirado por las vías aéreas y ser el desencadenante del asma.

Debe sospecharse en pacientes asmáticos cuando hay poca respuesta a medicamentos, el episodio de asma es precedido por pirosis o regurgitación, los ataques empeoran con el ejercicio o después de comer.<sup>88</sup>

### **CONCLUSIÓN**

Algunas de las asociaciones señaladas entre asma y obesidad varían no sólo entre el humano y el ratón, sino en los grupos de la misma especie con diferencias en edad y métodos de estudio. Sin embargo, la coincidencia de varios inductores y



elementos que exacerban ambos padecimientos, así como en vías moleculares compartidas, pone de manifiesto la relación existente entre ambas enfermedades. Asimismo, permite inferir que la obesidad puede incidir en el asma por diversos mecanismos, entre los que destacan los de origen mecánico, hormonal o inflamatorio.

## REFERENCIAS

- Olaiz-Fernández G, Rivera Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
- Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:897-909.
- Farah CS, Kermodé JA, Downie SR, et al. Obesity is a determinant of asthma control, independent of inflammation and lung mechanics. *Chest* 2011;140:659-666.
- Tantisira KG, Weiss S. Complex interaction in complex traits: obesity and asthma. *Thorax* 2001;56:64-74.
- Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, et al. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. *Salud Pública* 2013;55:151-160.
- García-Sancho C, Fernández-Plata R, Martínez-Briseño D, et al. Adult asthma in Mexico City: A population-based study. *Salud Pública Mex* 2012;54:425-432.
- Almeida VP, Guimaraes FS, Mogo VJ, et al. Correlation between pulmonary function, posture and body composition in patients with asthma. *Rev Port Pneum* 2013;19:204-210.
- Farah CS, Salome CM. Asthma and obesity: a known association but unknown mechanism. *Respirology* 2012;17:412-421.
- Szczepankiewicz A, Breborowicz A, Sobkowiak P, et al. Are genes associated with energy metabolism important in asthma and BMI? *J Asthma* 2009;46:53-58.
- Saadi A, Gao G, Li H, et al. Association study between vitamin D receptor gene polymorphisms and asthma in the Chinese Han population: a case-control study. *BMC Med Genet* 2009;10:71-77.
- Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, et al. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:419-446.
- Melen E, Himes BE, Brehm JM, et al. Analyses of shared genetic factors between asthma and obesity in children. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:631-637.
- Tesse R, Schieck M, Kabesch M. Asthma and disorders: shared mechanisms and genetic pleiotropy. *Mol Cell Endocrinol* 2011;333:103-111.
- Litonjua AA, Gold DR. Asthma and obesity: common early-life influences in the inception of disease. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1075-1084.
- Patel SP, Rodriguez A, Little MP, et al. Associations between pre-pregnancy obesity and asthma symptoms in adolescents. *J Epidemiol Community Health* 2012;66:809-814.
- Ramírez-Velez R. In utero fetal programming and its impact of health in adulthood. *Endocrinol Nutr* 2012;59:383-393.
- Korn S, Hübner M, Jung M, et al. Severe and uncontrolled adult asthma is associated with vitamin D insufficiency and deficiency. *Resp Res* 2013;14:25-30.
- Litonjua AA. Childhood asthma may be a consequence of vitamin D deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:202-207.
- Feng L, Li JR, Yang F. Relationship of serum 25-hydroxyvitamin D with obesity and inflammatory cytokines in children. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2013;15:875-879.
- Allan K, Kelly FJ, Devereux G. Antioxidants and allergic disease: a case of too little or too much? *Clin Exp Allergy* 2010;40:370-380.
- Dasarathy J, Periyalwar P, Allampati S, et al. Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2014;34:118-127.
- Wassall H, Devereaux G, Seaton A, et al. Complex effects of vitamin E and vitamin C supplementation on *in vitro* neonatal mononuclear cell responses to allergens. *Nutrients* 2013;5:3337-3351.
- Wu G, Chen J, Hoffman C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011;334:105-108.
- Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2013;34:39-58.
- Strober W. Impact of the gut microbiome on mucosal inflammation. *Trends Immunol* 2013;34:423-430.
- Cani PD, Neynincq AM, Fava F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007;150:2374-2383.
- Karlsson C, Onnerfalt J, Xu J, et al. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity* 2012;20:2257-2261.
- Palacios T, Coulson S, Butt H, et al. The gastrointestinal microbiota and multi-strain probiotic therapy: in children and adolescent obesity. *Adv Integrative Med* 2014;1:2-8.
- Ly NP, Litonjua A, Gold DR, et al. Gut microbiota, probiotics, and vitamin D: Interrelated exposures influencing allergy, asthma, and obesity? *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:1087-1094.
- Chen Y, Dales R, Tang M, et al. Obesity may increase the incidence of asthma in women but not in men: longitudinal observation from the Canadian National Population Health Surveys. *Am J Epidemiol* 2002;155:191-197.
- Vega-Robledo GB, Valencia-Zavala P, Sánchez-Olivas M, et al. Asociación de obesidad y asma alérgica en adultos. *Rev Alerg Méx* 2012;59:173-179.

32. Hamano N, Terada N, Maesako K, et al. Effect of female hormones on the production of IL-4 and IL-13 from peripheral blood mononuclear cells. *Acta Otolaringol* 1998;537:27-31.
33. Varraso R, Siroux V, Maccario J, et al. Epidemiological study on the genetics and environment of asthma. Asthma severity is associated with body mass index and early menarche in women. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:334-339.
34. Sood A, Qualls C, Li R, et al. Lean mass predicts asthma better than fat mass among females. *European Resp J* 2011;37:65-71.
35. Wang FV, Soronen J, Turpeinen U, et al. 17 $\beta$ -estradiol and estradiol fatty acyl esters and estrogen-converting enzyme expression in adipose tissue in obese men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4923-4931.
36. Davis KE, Neinast MD, Sun K, et al. The sexually dimorphic role of adipose and adipocyte estrogen receptors in modulating adipose tissue expansion, inflammation and fibrosis. *Mol Metab* 2013;2:227-242.
37. D'Eon TM, Souza SC, Aronovitz M, et al. Estrogen regulation of adiposity and fuel partitioning. Evidence of genomic and non-genomic regulation of lipogenic and oxidative pathways. *J Biol Chem* 2005;280:35983-35991.
38. Holguin F, Rojas M, Brown LA, et al. Airway and plasma leptin and adiponectin in lean and obese asthmatics and controls. *J Asthma* 2011;48:217-223.
39. Sutherland ER, Goleva E, Strand M, et al. Body mass and glucocorticoid response in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:682-687.
40. Giouleka P, Papatheodorou G, Lyberopoulos P, et al. Body mass index is associated with leukotriene inflammation in asthmatics. *Eur J Clin Invest* 2011;41:30-38.
41. Goleva E, Hauk PJ, Hall CF, et al. Corticosteroid-resistant asthma is associated with classical antimicrobial activation of airway macrophages. *J Allergy Clin Imm* 2008;122:550-559.
42. Barnes PJ, Adcock IM, Ito K. Histone acetylation and deacetylation: importance in inflammatory lung diseases. *Eur Respir J* 2005;25:552-563.
43. Kim SH, Sutherland ER, Gelfand EW. Is there a link between obesity and asthma? *Allergy Asthma Immunol Res* 2014;6:189-195.
44. Holgate ST. The airway epithelium is central to the pathogenesis of asthma. *Allergol Int* 2008;57:1-10.
45. Tilg H, Moschen RA. Role of adiponectin and PBEF/visfatin as regulators of inflammation: involvement in obesity-associated diseases. *Clinical Science* 2008;114:275-288.
46. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, et al. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes* 2007;36:1010-1013.
47. Wellen E, Fucho R, Gregor MF, et al. Coordinated regulation of nutrient and inflammatory responses by STAMP-2 is essential for metabolic homeostasis. *Cell* 2007;129:537-548.
48. Davis JE, Braucher DR, Walker-Daniels J, et al. Absence of Tlr2 protects against high-fat diet-induced inflammation and results in greater insulin-stimulated glucose transport in cultured adipocytes. *J Nutr Biochem* 2011;22:136-141.
49. De Luca C, Olefsky J. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* 2008;582:97-105.
50. Stientstra R, Tack C, Kanneganti T, et al. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metabolism* 2012;15:10-12.
51. Besnard AG, Guillou N, Tschopp J, et al. NLRP3 inflammasome is required in murine asthma in the absence of aluminum adjuvant. *Allergy* 2011;66:1047-1057.
52. Medina-Gómez G. Mitochondria and endocrine function of adipose tissue. *Best Practice Res Clin Endocrinol Metabol* 2012;26:791-804.
53. Trayhurn P, Wang B, Wood IS. Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation of tissue function in obesity? *Br J Nutr* 2008;100:227-235.
54. Wood IS, de Heredia FP, Wang B, et al. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *Proc Nutr Soc* 2009;68:370-377.
55. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med* 2011;364:656-665.
56. Holguin F, Fitzpatrick A. Obesity, asthma, and oxidative stress. *J Appl Physiol* 2010;108:754-759.
57. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 2010;140:900-917.
58. Cantero G, Fandos C, Valverde A, et al. The asthma associated ORMDL3 gene product regulates endoplasmic reticulum mediated calcium signaling and cellular stress. *Hum Mol Genet* 2010;19:111-121.
59. Rao S, Gil H, Na Ge X, et al. ORMDL3 promotes eosinophil trafficking an activation via regulation of integrins and CD 48. *Nat Commun* 2013;4:452-479.
60. Mekahli D, Bultynck G, Parys J, et al. Endoplasmic-reticulum calcium depletion and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3:a004317.
61. Mabalirajan U, Ghosh B. Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome and asthma. *J Allergy (Cairo)* 2013;340476. Doi: 10.1155/2013/340476.
62. Jaremko L, Jaremko M, Giller K, et al. Structure of the mitochondrial translocator protein in complex with a diagnostic ligand. *Science* 2014;343:1363-1366.
63. Kleinridders A, Lauritzen H, Ussar S, et al. Leptin regulation of Hsp 60 impacts hypothalamic insulin signaling. *J Clin Invest* 2013;123:4667-4680.
64. Nomiyama T, Perez-Tilve D, Ogawa D, et al. Osteopontin mediates obesity-induced adipose tissue macrophage infiltration and insulin resistance in mice. *J Clin Invest* 2007;117:2877-2888.
65. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 2007;117:175-184.

66. Wu H, Ghosh S, Perrad XD, et al. T cell accumulation and regulated on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity. *Circulation* 2007;115:1029-1038.
67. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med* 2009;15:914-920.
68. Provoost S, Anaes T, VanDurme Y, et al. Decreased FoxP3 protein expression in patients with asthma. *Allergy* 2009;64:1539-1546.
69. Poglio S, De Toni-Costes F, Arnaud E, et al. Adipose tissue as a dedicated reservoir of functional mast cell progenitors. *Stem Cells* 2010;28:2065-2072.
70. Pare PD, McParland E, Seow CY. Structural basis for exaggerated airway narrowing. *Can J Physiol Pharmacol* 2007;85:653-658.
71. Saraiva SA, Silva AL, Xisto DG, et al. Impact of obesity on airway and lung parenchyma remodeling in experimental chronic allergic asthma. *Resp Physiol Neurobiol* 2011;177:141-148.
72. Fuentes E, Fuentes F, Vilahuer G, et al. Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediat Inflamm* 2013; doi. Org/10.1155/2013/136584.
73. Youssef D, Elbhedy R, Shakry D, et al. P48- Leptin, IL-4, IFN $\gamma$  in obese asthmatic children. *Clin Transl Allergy* 2014;4:103. Doi: 10.1186/2045-7022-4-S1-103.
74. Dixon AE, Pratley RE, Forgione PM, et al. Effects of obesity and bariatric surgery on airway hyperresponsiveness, asthma control, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:508-515.
75. Shore SA, Schwartzman IN, Mellema MS, et al. Effect of leptin on allergic airway responses in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:103-109.
76. Williams AS, Leung SY, Nath P, et al. Role of TLR2, TLR4, and MyD88 in murine ozone-induced airway hyperresponsiveness and neutrophilia. *J Appl Physiol* 2007;103:1189-1195.
77. Kim HY, Chang YJ, Subramanian S, et al. Innate lymphoid cells responding to IL-33 mediate airway hyperreactivity independently of adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:216-227.
78. Gwang Cheon J. Natural killer T cell and pathophysiology of asthma. *Korean J Pediatr* 2010;53:136-145.
79. Kim HY, Lee HJ, Chang YJ, et al. IL-17 producing innate lymphoid cells and the NLRP-3 inflammasoma facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nat Med* 2013 doi:10.1038/nm3423.
80. Shore SA, Terry SD, Flynt L, et al. Adiponectin attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:389-395.
81. Zhu M, Hug C, Kasahara DI, et al. Impact of adiponectin deficiency on pulmonary responses to acute ozone exposure in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010;43:487-497.
82. Openheimer B, Berger K, Segal L, et al. Airway dysfunction in obesity: response to voluntary restoration of end expiratory lung volume. *PLOS one* 2014;doi: 10.1371/journal.pone.0088015. PLoS One 2014;9:88015.
83. Krishnarpan Ch, Chetana S. Respiratory morbidity in obesity, beyond obstructive sleep apnea. *Ann Thorac Med* 2014;9:182-183.
84. Foster G, Poulin M, Hanly P. Intermittent hypoxia and vascular function: implications for obstructive sleep apnea. *Exp Physiol* 2007; 92:51-65.
85. Levy P, Tannisler C, Launois S, et al. Sleep apnea syndrome in 2011: current concepts and future directions. *Eur Resp Rev* 2011;20:134-146.
86. Piper AJ, Grunstein R. Obesity hypoventilation syndrome: mechanisms and management. *Am J Resp Crit Care Med* 2011;183:292-298.
87. Karnatovskaia LV, Lee AS, Bender SP, et al. Obstructive sleep apnea, obesity, and the development of acute respiratory distress syndrome. *J Clin Sleep Med* 2014;10:657-662.
88. Dixon AE, Clerisme-Beaty EM, Sugar EA, et al. Effects of obstructive sleep apnea and gastroesophageal reflux disease on asthma control in obesity. *J. Asthma* 2011;48:707-713.

# Los linfocitos B y las inmunodeficiencias primarias

Gabriela López-Herrera

## Resumen

Las inmunodeficiencias primarias de anticuerpos representan las enfermedades genéticas del sistema inmunitario más frecuentes y las primeras en ser reconocidas durante la historia de la inmunología. Los anticuerpos se reconocieron como parte de la respuesta inmunitaria humoral desde hace más de un siglo, tiempo después de su descubrimiento se reconoció la primera inmunodeficiencia primaria de anticuerpos: la agammaglobulinemia, seguida por la inmunodeficiencia común variable y el síndrome de hiper-IgM. Los descubrimientos subsecuentes en la historia de la inmunología facilitaron el entendimiento de la patología de estas enfermedades; por ejemplo, el descubrimiento de los linfocitos B, de las células B inmaduras en médula ósea, de la señalización del receptor de antígeno en estas células, entre muchos otros mecanismos celulares y moleculares. Las inmunodeficiencias humorales se han estudiado ampliamente y también han apoyado los avances científicos para la comprensión de los mecanismos inmunológicos que tienen lugar en nuestro organismo. Esta revisión documental pretende revisar los hallazgos relevantes en la historia del linfocito B y su conexión con el descubrimiento de nuevas inmunodeficiencias primarias de anticuerpos con el objetivo de mostrar que la generación del conocimiento científico tiene una aplicación directa en el entendimiento de los mecanismos moleculares que se ven afectados en este tipo de defectos.

**PALABRAS CLAVE:** inmunodeficiencias primarias de anticuerpos, enfermedades genéticas del sistema inmunitario, agammaglobulinemia, linfocitos B.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):58-70.

## Lymphocytes B and primary immunodeficiencies.

Gabriela López-Herrera

## Abstract

Primary antibody deficiencies represent the most frequent genetic diseases of the immune system and the first to be recognized along immunology history. The antibodies were recognized as part of the humoral immune system long ago, and after immunoglobulin discovery, the first antibody immunodeficiency were recognized and named as "agammaglobulinemia", followed by the common variable immuno-

Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias,  
Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud,  
Ciudad de México.

Recibido: 22 de septiembre 2015

Aceptado: 6 de enero 2016

## Correspondencia

Dra. Gabriela López Herrera  
lohegabyqbp@gmail.com

## Este artículo debe citarse como

López-Herrera G. Los linfocitos B y las inmunodeficiencias primarias. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):58-70.

deficiency and the hyper-IgM syndrome. The following discoveries in immunology history made possible the understanding of these pathologies, for example: the discoveries of B cells, pre-B cells, the signaling pathway directed by the antigen receptor and many other cellular and molecular mechanisms. Primary antibody deficiencies have been studied for a long time and the discoveries of new syndromes have been helpful in the understanding of immunological mechanisms that take place in our organism. Then, this manuscript pretends to review the relevant findings in the history of immunology, focused on the B cells and the connection with the description of representative clinical entities of primary antibody deficiencies. The aim of this manuscript is to show to the reader that the generation of scientific knowledge has a direct application in the understanding of the molecular mechanisms that are affected in these diseases.

**KEYWORDS:** primary antibody deficiencies; genetic diseases of the immune system; agammaglobulinemia; B cells

Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, Ciudad de México.

**Correspondence**

Dra. Gabriela López Herrera  
lohegabyqbp@gmail.com

### Inmunodeficiencias primarias

Las inmunodeficiencias primarias son enfermedades que se distinguen por alteraciones genéticas que afectan la diferenciación o la función de las células del sistema inmunitario, lo que conlleva a una susceptibilidad exacerbada a contraer infecciones graves por diferentes tipos de microorganismos. Las inmunodeficiencias primarias son resultado de mutaciones en genes que codifican para proteínas importantes para la diferenciación de las células del sistema inmunitario o, bien, proteínas que participan en vías de señalización útiles para efectuar su función (producción de anticuerpos, citocinas, especies reactivas de oxígeno, etc.).<sup>1</sup>

Las inmunodeficiencias primarias se clasifican en diversos grupos de acuerdo con el componente del sistema inmunitario que se ve afectado, así tenemos, por ejemplo, inmunodeficiencias primarias en las que se ve afectada la función de los fagocitos, los linfocitos T, el complemento y de manera importante, la producción de anticuerpos o inmunoglobulinas. Las inmuno-

deficiencias primarias de anticuerpos (también conocidas como humorales) son los trastornos diagnosticados con más frecuencia en todo el mundo; aproximadamente 55% del total de las inmunodeficiencias primarias diagnosticadas son de este tipo (<http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>).

Las inmunodeficiencias primarias humorales, a su vez, se subclasifican en tres tipos principales: la agammaglobulinemia (caracterizada por la disminución drástica de todos los isotipos de inmunoglobulinas), la inmunodeficiencia común variable (en la que existe una reducción de las concentraciones de dos de los tres isotipos de inmunoglobulinas que se encuentran en suero: IgM, IgG e IgA) y el síndrome de hiper-IgM, en el que sólo hay producción de IgM y la producción de IgG e IgA está disminuida;<sup>2</sup> existe, además, una serie de defectos humorales cuyas causas en la mayoría de los pacientes aún se desconocen, como la deficiencia de IgA, la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, la deficiencia de subclases de IgG y la deficiencia específica de anticuerpos. El descubrimiento de estas en-

fermedades está estrechamente asociado con el descubrimiento del linfocito B; los aspectos históricos que ligan estas enfermedades con la función y la diferenciación del linfocito B se detallan a lo largo de esta revisión.

### Aspectos históricos de las inmunodeficiencias de células B

Uno de los reportes más antiguos que pueden encontrarse de deficiencias inmunológicas es un reporte publicado por Glanzmann y Riniker, en 1950, quienes comunicaron un caso clínico conformado por un síndrome de “agammaglobulinemia y linfocitoptosis” que después se llamó “agammaglobulinemia tipo suizo”; los pacientes con este síndrome se caracterizaban por la aparición temprana de los síntomas y la fatalidad de la misma. A pesar de que Glanzman y Riniker fueron los primeros en reportar el fenotipo clínico de la inmunodeficiencia combinada severa, no pudieron reconocerla como tal, pues reportaron que ese fenotipo se debía a infecciones severas por *Candida albicans*.<sup>3</sup>

Además, desde hace más de medio siglo, tras el descubrimiento de las anticuerpos, se ha descrito una serie de síndromes clínicos de causa genética que afectan al sistema inmunológico. El ejemplo más característico de esto es la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (XLA), descrita en 1952 por Ogden C Bruton, quien reportó en ese entonces el seguimiento clínico y de laboratorio de un paciente pediátrico que desde edades tempranas había sufrido diversos cuadros infecciosos causados por *Streptococcus pneumoniae*, casi siempre de la misma cepa; en esa época ya era conocido el fenómeno de memoria inmunológica, dada la protección frente a diversas infecciones que se conseguía con la vacunación;<sup>4</sup> a este respecto, el paciente reportado por Bruton parecía carecer de memoria inmunológica. En ese mismo artículo, Bruton determinó una carencia de inmunoglobulinas en

el suero de este paciente y, tras administrar de manera pasiva anticuerpos de individuos sanos, observó mejoría clínica en él.<sup>5</sup> Las observaciones realizadas por Bruton lo llevaron a reunirse con Charles A Janeway (en el Boston Children’s Hospital), ambos examinaron y comunicaron una serie de cinco casos con un curso clínico similar en la reunión de la Sociedad de Investigación Pediátrica (PRS), en Atlantic City, en 1952;<sup>6</sup> sin embargo, Janeway nunca publicó los cuatro casos observados en Boston.<sup>7</sup>

Uno de los cinco pacientes reportados por Bruton y Janeway en el congreso de la Sociedad de Investigación Pediátrica tomó relevancia en años posteriores, porque, a pesar del tratamiento con gammaglobulina humana, este paciente tuvo complicaciones graves, fue hospitalizado por hematuria debido a una glomerulonefritis posestreptocócica. Además, Fred Rosen y Charles A Janeway reportaron la existencia de concentraciones elevadas en suero de anticuerpos 19S (IgM) y disminuidas de anticuerpos 7S (IgG), identificando el síndrome que ahora se conoce como síndrome de hiper-IgM (HIGM).<sup>8</sup> Durante mucho tiempo este síndrome se consideró un defecto intrínseco de las células B; sin embargo, estudios posteriores demostraron que el defecto funcional estaba en los linfocitos T; en este caso, de un tumor de linfocitos T (síndrome de Sézary) que inducía de manera activa la recombinación del cambio de isotipo, se utilizó para inducir cambio de isotipo en células B de pacientes con síndrome de hiper-IgM.<sup>9</sup> Sin embargo, existen diferentes variedades del síndrome de hiper-IgM y varios de éstos muestran, efectivamente, defectos intrínsecos de la célula B.

Charles Janeway acuñó el término de inmunodeficiencia común variable para englobar a los pacientes con concentraciones disminuidas de inmunoglobulinas (pero no ausentes); también reportó la forma transitoria de la agammaglobulinemia, ahora nombrada hipo-

gammaglobulinemia transitoria de la infancia;<sup>10,11</sup> más tarde, estos términos los retomó Max D Cooper, quien en 1978 publicó la primera clasificación de las inmunodeficiencias primarias.<sup>12</sup>

La deficiencia de IgA (IgAd), una de las inmunodeficiencias primarias humorales más frecuentes, se describió en 1966 en pacientes adultos con diarrea, absorción intestinal reducida y con episodios de bronconeumonía;<sup>13</sup> seguido a este hallazgo, se describió la deficiencia de subclases de IgG, en 1970, por un grupo liderado por Fred Rosen, quienes determinaron esta inmunodeficiencia en pacientes que padecían infecciones de repetición por microorganismos piógenos;<sup>14</sup> la deficiencia selectiva de anticuerpos frente a polisacáridos bacterianos se describió en 1985, cuando Raif S Geha reportó una serie de pacientes con infecciones sinopulmonares recurrentes y con títulos disminuidos de anticuerpos contra polisacáridos de *Haemophilus influenzae* tipo B.<sup>15</sup>

En la Figura 1 se muestran algunos descubrimientos respecto a la biología, desarrollo y función del linfocito B y el descubrimiento de las principales inmunodeficiencias primarias de anticuerpos que se estudian en la actualidad.

### **Frecuencia de las inmunodeficiencias humorales**

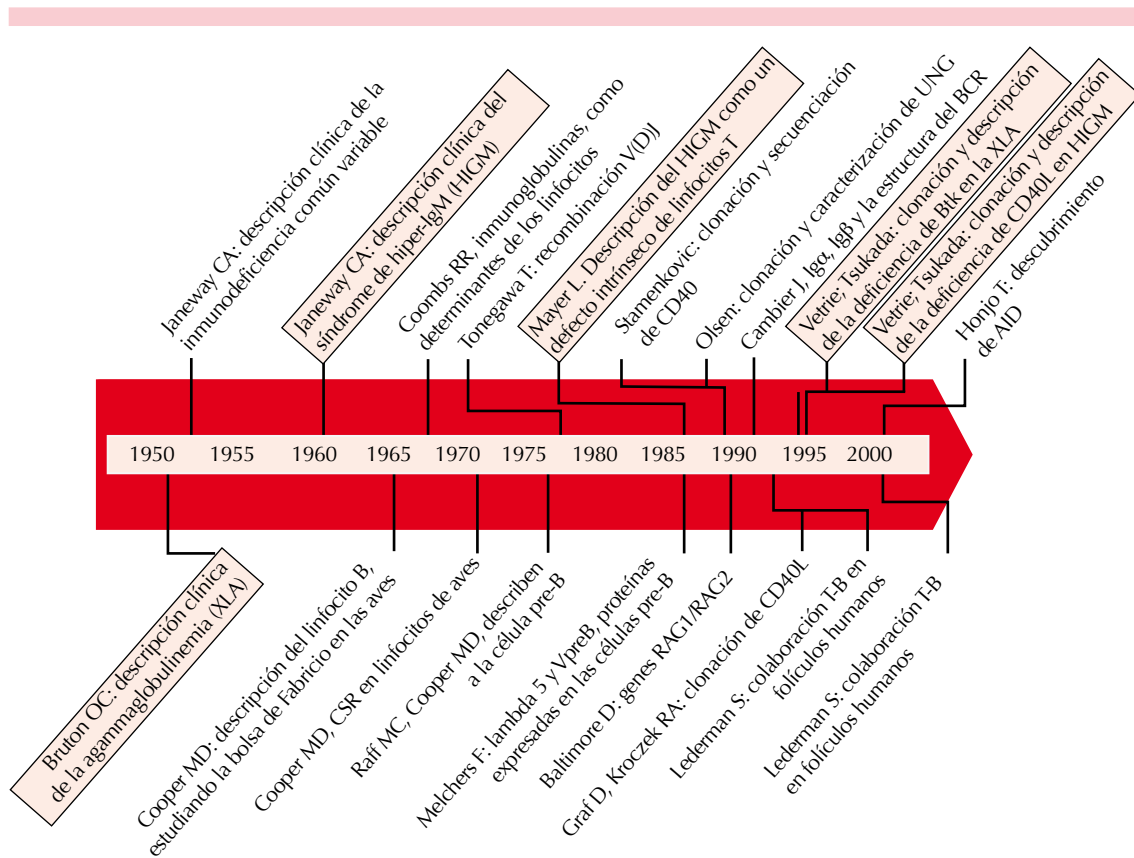
En la actualidad, existen comunidades científicas que se dan a la tarea de registrar y organizar una base de datos que contiene la información acerca de los tipos de diagnóstico de inmunodeficiencias primarias que se realizan. La Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (ESID) es, quizá, la comunidad científica que ha presentado datos relevantes al respecto. En la página electrónica de esa sociedad, <http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics> puede notarse que las inmunodeficiencias primarias de anticuerpos se han considerado los defectos más comúnmente diagnosticados en el mun-

do y abarcan en la actualidad cerca de 60% de los diagnósticos. Los principales grupos de inmunodeficiencias primarias que afectan la diferenciación y la función de las células B son: la agammaglobulinemia, el síndrome de hiper-IgM y la inmunodeficiencia común variable. Sin embargo, existen muchos otros defectos en los que la célula B se ve afectada en su función o diferenciación; sin embargo, estos defectos forman parte de otro tipo de inmunodeficiencias primarias, como los defectos combinados de células T y B, síndromes complejos como ataxia-telangiectasia o síndrome de Griscelli, entre otros.

La IgAd es la inmunodeficiencia primaria más frecuente, su prevalencia es de 1/500 en población caucásica,<sup>16</sup> mientras que la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, la deficiencia de subclases de IgG y la deficiencia selectiva de anticuerpos son enfermedades raras y no existen estadísticas confiables respecto a su ocurrencia. Además, los mecanismos inmunológicos asociados con estas inmunodeficiencias se han estudiado poco, por lo que en este artículo abordaremos las tres inmunodeficiencias primarias humorales mayormente estudiadas a lo largo de la historia de la inmunología: la agammaglobulinemia, el síndrome de hiper-IgM y la inmunodeficiencia común variable.

### **Determinación de las deficiencias genéticas en las inmunodeficiencias primarias**

Para el decenio de 1960 ya era clara la existencia de las inmunodeficiencias primarias; sin embargo, no se conocía el defecto genético que originaba ninguno de los síndromes descritos en esa época. En 1972 y 1975, Eloise Giblett determinó dos defectos genéticos en pacientes con inmunodeficiencia combinada severa (SCID); el primero de ellos, la deficiencia de adenosina desaminasa (ADA), se encontró de manera



**Figura 1.** Descubrimientos respecto a la biología, desarrollo y función del linfocito B y el descubrimiento de las principales inmunodeficiencias primarias de anticuerpos que se estudian en la actualidad.

fortuita cuando Hillary Mewissen contactó a Eloise Giblett con el objetivo de determinar algunos marcadores polimórficos en un paciente con inmunodeficiencia combinada severa para realizarle un trasplante; uno de estos marcadores polimórficos que se utilizaban en el laboratorio de Eloise Giblett era precisamente adenosina desaminasa; este paciente carecía de la actividad de esta enzima.<sup>17</sup> Los avances tecnológicos, como los métodos de secuenciación del ADN y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por Frederick Sanger y Kary Mullins, respectivamente,<sup>7</sup> dieron la pauta para determinar muchos de los defectos genéticos asociados con las inmunodeficiencias primarias y la actual tecnología de

secuenciación masiva del ADN ha resultado en que se reporten con una frecuencia aún mayor nuevos defectos genéticos asociados con estas enfermedades.

**Agammaglobulinemia**

Los avances en el conocimiento de mecanismos inmunológicos también facilitaron la búsqueda de estos defectos genéticos; por ejemplo, el descubrimiento de las células pre-B ocurrió a mediados del decenio de 1970;<sup>18</sup> la descripción de los componentes del receptor de la célula pre-B (pre-BCR) se realizó en los decenios de 1980 y 1990<sup>19,20</sup> y la descripción de uno de los com-



ponentes de la vía de señalización del pre-BCR se describió gracias a la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X; dos grupos independientes<sup>21,22</sup> mapearon, clonaron y describieron la secuencia codificante de la ahora conocida tirosina cinasa de Bruton (Btk).

Los casos de agammaglobulinemia autosómica recesiva (ARA) también se observaron desde la época de Charles A Janeway; el conocimiento de la estructura del pre-BCR y la señalización del mismo facilitaron la determinación de los defectos genéticos en la agammaglobulinemia autosómica recesiva. A la fecha se conocen siete genes implicados en esta enfermedad; entre éstos están los genes que codifican para IgH $\mu$ ,  $\lambda$ 5, Ig $\alpha$ , Ig $\beta$ , BLNK, PI3Kp85 y LRRC8A, todas estas moléculas (con excepción de LRRC8A, de la que aún se desconoce su función) forman parte del pre-BCR o de su vía de señalización.<sup>2</sup>

### Síndrome de hiper-IgM

Otro síndrome que se asocia con defectos funcionales en las células B es el síndrome de hiper-IgM, entidad clínica descrita a principios del decenio de 1960 por Charles A Janeway.<sup>8</sup> Desde su descripción, el síndrome de hiper-IgM se consideró un defecto intrínseco de las células B; sin embargo, la descripción del defecto genético asociado con la forma ligada al cromosoma X (XHIGM) puso de manifiesto la importancia de la cooperación T-B. En 1985, Lloyd Mayer y Henry Kunkel, al realizar cocultivos de estas células T de linfoma con células B de pacientes con síndrome de hiper-IgM ligado al cromosoma X descubrieron que estas últimas eran capaces de realizar el cambio de isotipo y expresar IgG e IgA.<sup>9</sup> El defecto genético causante del síndrome de hiper-IgM ligado al cromosoma X lo describieron en 1993 cinco grupos de manera independiente, y resultó ser CD40L, molécula que justo un año antes se describió desde el punto de vista funcional; molécula expresada

por los linfocitos T<sup>23,24</sup> y que ahora se sabe es decisiva para la inducción del cambio de isotipo en las células B.<sup>2</sup>

El descubrimiento de que CD40L es la molécula afectada en pacientes con el síndrome de hiper-IgM dio la pauta para la generación de ratones deficientes de CD40, que muestran un fenotipo similar al del síndrome de hiper-IgM, porque esos ratones son incapaces de montar una respuesta humoral a antígenos timo-dependientes.<sup>25</sup>

En años posteriores se describieron los defectos genéticos asociados con el síndrome de hiper-IgM autosómico recesivo (AR-HIGM); el defecto genético en CD40 se describió en seres humanos en 2001, cuando se observó que las mutaciones en CD40 son responsables de un síndrome indistinguible desde el punto clínico de la forma de síndrome de hiper-IgM ligado al cromosoma X;<sup>26</sup> de manera adicional se han descrito mutaciones en los genes de ADA, UNG y proteínas de reparación de ADN (PMS2, LIG4, cerunnos, entre otros); la deficiencia genética de estos últimos no sólo da lugar a defectos en el cambio de isotipo en el ADN, sino que además se asocia con fragilidad cromosómica, generación de cáncer y facies características en los pacientes que la padecen.<sup>2</sup>

### Inmunodeficiencia común variable

La inmunodeficiencia común variable fue el término usado por Charles A Janeway en 1953 para definir a los pacientes con hipogammaglobulinemia de IgG, IgA, IgM o las tres;<sup>10</sup> este término lo usó posteriormente Max D Cooper, en 1978, en la primera clasificación de las inmunodeficiencias primarias,<sup>12</sup> que se usa hasta la fecha. Los hallazgos clínicos asociados con este síndrome comprenden concentraciones bajas de dos de las tres inmunoglobulinas principales en suero (IgG, IgA e IgM), con existencia de linfocitos B en sangre periférica.<sup>27</sup> La manifestación clínica de esta enfermedad es muy

variable: los pacientes pueden cursar con alteraciones gastrointestinales (enteropatía, enfermedad inflamatoria del intestino), autoinmunidad (con predominio de anemia hemolítica autoinmunitaria y trombocitopenia idiopática), formación de granuloma y linfomas, además de que se han reportado alteraciones funcionales en diversos tipos celulares, como linfocitos T, linfocitos B, células dendríticas, monocitos, entre otros.<sup>27</sup> Asimismo, los defectos genéticos que se han identificado a la fecha también son variables.

La variabilidad en el fenotipo clínico de los pacientes con inmunodeficiencia común variable se ve reflejada en los genes asociados con esta enfermedad, porque, a diferencia de los genes asociados con agammaglobulinemia y síndrome de hiper-IgM, que están implicados en la señalización de pre-BCR y en el cambio de isotipo, respectivamente, los genes asociados con inmunodeficiencia común variable participan en diversas vías de señalización.<sup>28</sup>

A pesar de ser una enfermedad descrita desde 1953, la descripción del primer defecto genético asociado con inmunodeficiencia común variable se hizo en 2003, cuando Grimbacher y colaboradores describieron mutaciones homocigotas en el coestimulador inducible (ICOS), que es una molécula expresada por las células T y que al interactuar con su ligando (ICOSL, expresado en las células presentadoras de antígeno), induce una respuesta de citocinas, como IL-4, IL-5 e IL-10, que favorecen la polarización hacia Th2 y, en consecuencia, la producción de anticuerpos en los linfocitos B.<sup>29</sup>

El siguiente defecto genético que se describió, fue TACI (por sus siglas en inglés de *transmembrane activator and CALM interactor*), un receptor expresado por los linfocitos B que interactúa con el factor activador de la célula B (BAFF) y el ligando inductor de la proliferación (APRIL). La interacción de TACI con sus ligandos (BAFF y APRIL) favorece la supervivencia, proli-

feración y la producción de inmunoglobulinas por parte de los linfocitos B.<sup>30</sup> La deficiencia de TACI se describió en un grupo de pacientes adultos con concentraciones disminuidas de linfocitos B de memoria con cambio de isotipo (CD19+IgD-CD27+), y que mostraban datos de linfoproliferación (hepatomegalia, esplenomegalia, adenomegalia, o autoinmunidad como tiroiditis, anemia perniciosa y vitíligo).<sup>31,32</sup> La mayoría de los pacientes con defectos en TACI los heredan en un patrón autosómico dominante; es decir, que basta con que uno de los alelos que codifican para TACI tenga la mutación para que se manifieste la inmunodeficiencia común variable; sin embargo, también existen casos autosómicos recesivos y heterocigotos compuestos, aunque con menor frecuencia;<sup>33</sup> asimismo, se han reportado individuos sanos con los mismos cambios genéticos presentes en los pacientes con inmunodeficiencia común variable, por lo que aún queda por determinar si existen otros factores genéticos o ambientales que pudieran influir en la aparición de esta enfermedad. La deficiencia del receptor de BAFF (BAFFR) se describió en años posteriores; esta deficiencia se asocia con defectos en la generación de células B de memoria con cambio de isotipo, pero a diferencia de la deficiencia de TACI, no existen síntomas de autoinmunidad.<sup>34</sup>

De manera adicional, se han descrito defectos genéticos que afectan al correceptor de la célula B formado por CD19, CD21 y CD81 en pacientes con inmunodeficiencia común variable. Manóvan Zelm y colaboradores describieron en 2006 cinco pacientes provenientes de dos familias con mutaciones homocigotas en el gen que codifica para CD19; posteriormente se detectó un solo paciente con deficiencia de CD81 y otro con deficiencia de CD21;<sup>35-37</sup> mientras que la deficiencia de CD19 y CD21 se correlaciona con disminución de células B de memoria con cambio de isotipo (CD19+IgM-CD27+) e hipogammaglobulinemia, la deficiencia de CD81 se manifestó, además, con autoinmunidad,

posiblemente debido a que CD81 se expresa en diferentes tipos celulares, incluidos los timocitos, en los que podría modular la señalización del receptor de estas células (TCR).<sup>38</sup>

Otro grupo de defectos que puede identificarse en la inmunodeficiencia común variable son los que afectan a IL-21 y su receptor (IL-21R). La deficiencia de IL-21R se asocia con alteraciones en activación, formación de células B de memoria y cambio de isotipo en los linfocitos B, además de defectos en la citotoxicidad mediada por las células NK y en la producción de diversas citocinas por parte de las células T.<sup>39</sup> Asimismo, las mutaciones homocigotas en IL-21 inducen un fenotipo de inmunodeficiencia común variable asociado con enfermedad inflamatoria del intestino (IBD); sin embargo, aún no es claro cuál es el papel de IL-21/IL-21R en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria del intestino; posiblemente se deba a deficiencias en la secreción de IL-10 causadas por la deficiencia de IL-21.<sup>40</sup>

La deficiencia de PLC $\gamma$ 2 surgió recientemente como causa de inmunodeficiencia común variable; de manera similar a los defectos listados en inmunodeficiencia común variable, los pacientes padecen defectos en la generación de células B de memoria con cambio de isotipo y en la producción de anticuerpos. Es interesante que uno de los hallazgos clínicos asociados con esta deficiencia es que los pacientes, además de autoinmunidad, tienen deficiencias funcionales en las células NK acompañadas de urticaria al frío, originadas principalmente por una degranulación espontánea de los mastocitos a temperaturas menores a 37°C.<sup>41</sup>

Los defectos genéticos en *PIK3CD*, que codifica para la subunidad catalítica p110 $\delta$  de la fosfoinositido 3-cinasa (PI3K), se asocian con una ganancia de función en esta enzima, porque las células T de los pacientes tienen hiperacti-

vación de Akt, acompañada de defectos en la generación de células B y T de memoria, así como deficiencias funcionales en los linfocitos T citotóxicos.<sup>42</sup> Los individuos con esta deficiencia genética padecen hipogammaglobulinemia; sin embargo, también se han detectado pacientes con concentraciones elevadas de IgM y reducidas de IgG e IgA, linfoproliferación, susceptibilidad a infecciones por microorganismos piógenos, viremia por el virus de Epstein-Barr, entre otros hallazgos.<sup>42,43</sup> La importancia de esta molécula en la biología del linfocito B es apoyada por dos reportes adicionales: el primero de ellos es la deficiencia genética de la subunidad reguladora p85-PI3K, que se asocia con un síndrome clínico de agammaglobulinemia<sup>44</sup> y, por otra parte, eliminaciones en *PIK3R1* que ocasionan la pérdida de la expresión de p85, p55 y p50, causando un fenotipo clínico similar al observado en los pacientes con deficiencia en *PIK3CD*.<sup>45</sup>

Recientemente, las mutaciones heterocigotas en *CTLA4* se describieron en un grupo de pacientes con inmunodeficiencia común variable acompañada de autoinmunidad. En estos pacientes ocurre una disminución progresiva con la edad de las células B, además de la falla en diferenciación a linfocitos B de memoria; por otra parte, también ocurren alteraciones funcionales en los linfocitos T, especialmente defectos en la generación de linfocitos T reguladores (Treg), posiblemente debido a la disminución en la inducción de FoxP3; de manera adicional, la deficiencia de CTLA-4 se acompaña de hiperactivación de los linfocitos T cooperadores y T citotóxicos, y se asocia con autoinmunidad.<sup>46,47</sup>

Por último, la deficiencia en LRBA (por sus siglas en inglés de *lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor*) se asoció con defectos en la supervivencia de las células T y las células B, así como con autofagia exacerbada y defectos en la diferenciación de las células B a células

de memoria.<sup>48</sup> Esta deficiencia se reportó en pacientes con autoinmunidad y mala respuesta a vacunas sin disminución en las concentraciones plasmáticas de las inmunoglobulinas y en pacientes con autoinmunidad tipo IPEX; es decir, pacientes con deficiencia en la generación de células T reguladoras.<sup>49</sup> A diferencia de los defectos genéticos mencionados en la inmunodeficiencia común variable, de los que se conocen las vías de señalización que participan, en el caso de la deficiencia de LRBA no se conoce su función. El conocimiento de la secuencia de LRBA nos da una pauta para realizar hipótesis acerca de ésta: por ejemplo, no parece que LRBA tenga ningún tipo de actividad enzimática y, debido a que tiene ciertos dominios estructurales, como PH, SH3, SH2, BEACH y WD40, se predice que su función es la de una proteína de andamiaje, aunque la(s) vía(s) de señalización en la(s) que está implicada se desconoce; sin embargo, LRBA tiene motivos AKAP (*A-kinase anchored protein*) que facilitarían su interacción con las subunidades reguladoras de la proteína dependiente de AMPc (PKA-R), además de otros dominios que podrían facilitar su interacción con proteínas de autofagia.<sup>50-52</sup> Los defectos genéticos mencionados se listan en el Cuadro 1.

Por último, la inmunodeficiencia común variable, junto con la agammaglobulinemia, son las inmunodeficiencias primarias más comúnmente diagnosticadas en el mundo (después de la deficiencia de IgA, que no se considera clínicamente grave, motivo por el que omitimos su discusión). Asimismo, mientras que casi el 100% de los casos de agammaglobulinemia se asocian con los defectos genéticos mencionados, los defectos en inmunodeficiencia común variable no cubren más de 20% de los casos con este diagnóstico, por lo que diversos grupos de científicos en el mundo han centrado sus investigaciones en el estudio de esta inmunodeficiencia primaria.

**Cuadro 1.** Principales inmunodeficiencias primarias humorales y los genes identificados en las mismas

Proteína deficiente	Fenotipo clínico	Patrón de herencia
Btk	Agammaglobulinemia	Ligado al cromosoma X
IgHμ		Autosómico recesivo
BLNK		Autosómico recesivo
λ5		Autosómico recesivo
Igα		Autosómico recesivo
Igβ		Autosómico recesivo
PI3K p85 LRRC8A		Autosómico recesivo
CD40L	Síndrome de hiper-IgM	Ligado al cromosoma X
AID		Autosómico recesivo
CD40		Autosómico recesivo
UNG		Autosómico recesivo
ICOS	Inmunodeficiencia común variable	Autosómico recesivo
TACI		Autosómico dominante
BAFFR		Autosómico recesivo
CD19		Autosómico recesivo
CD21		Autosómico recesivo
CD81		Autosómico recesivo
IL-21		Autosómico recesivo
IL-21R		Autosómico recesivo
PLCγ2		Autosómico recesivo
PI3K p110δ		Autosómico dominante
CTLA4		Autosómico dominante
LRBA	Autosómico recesivo	

**Inmunodeficiencias primarias humorales en México**

El estudio de este grupo de defectos inició en nuestro país hace poco más de una década. El primer síndrome analizado fue precisamente la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X; se estudió una cohorte de pacientes diagnosticados desde el punto de vista clínico en el Instituto Nacional de Pediatría (INP), SSA, y el Centro Médico Nacional La Raza, IMSS. Después de un estudio fenotípico y genético se determinó el tipo de mutaciones en esos pacientes; se encontraron 14 mutaciones, dos de ellas resultaron ser nuevas; es decir, que no existía ningún reporte del mismo cambio genético encontrado por nuestro grupo.<sup>53</sup> En la actualidad, el número de pacientes con agammaglobulinemia ligada al cromosoma X en los

que se busca su defecto molecular, es de 70, todos provienen de diferentes centros de salud, principalmente, el INP-SSa, el Centro Médico Nacional La Raza, IMSS, y el Centro Médico Nacional del Noreste, IMSS.

El hallazgo de mutaciones nuevas en *BTK* nos lleva a realizar estudios adicionales para demostrar la importancia de estas mutaciones; por ejemplo, las dos nuevas mutantes reportadas en 2008<sup>53</sup> nos llevaron a comprobar la deficiencia en la función de la proteína utilizando un sistema de células B de pollo, *knock-out* para *Btk*.<sup>54</sup>

El síndrome de hiper-IgM ligado al cromosoma X ha sido objetivo de otro de nuestros proyectos de investigación, aunque el número de casos diagnosticados en la clínica es limitado; al respecto, se ha reportado una serie de seis pacientes con mutaciones en el gen que codifica para CD40L<sup>55</sup> y actualmente se estudian tres pacientes más que probablemente tengan este defecto.

Otro de los intereses de nuestro grupo de investigación es el estudio de los defectos genéticos en la inmunodeficiencia común variable. Al respecto, se cuenta con una cohorte de 70 pacientes con este diagnóstico, provenientes de diferentes centros de salud, como Centro Médico Nacional La Raza, IMSS, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, y el Instituto Nacional de Pediatría, SSa. En estos pacientes pretendemos determinar si tienen alteraciones en el desarrollo periférico de los linfocitos B, identificando mediante la detección de marcadores de superficie, diferentes tipos celulares, como células B vírgenes, células B transicionales, células B de memoria con y sin cambio de isotipo y células B con baja expresión de CD21 (CD21<sup>low</sup>).<sup>56</sup> Este tipo de determinaciones, aunque no orienta el diagnóstico genético, es confirmatorio de inmunodeficiencia común variable y en algunos casos orienta el pronóstico de la misma, porque los individuos con

un alto porcentaje de células B CD21<sup>low</sup> se asocian con la ocurrencia de enfermedades autoinmunitarias.

En la actualidad uno de nuestros intereses en el estudio de inmunodeficiencia común variable consiste en determinar la deficiencia de LRBA en pacientes mexicanos con este diagnóstico. Resulta interesante detectar individuos con mutaciones en este gen, para posteriormente profundizar en el estudio de la posible función de esta molécula en los linfocitos B, por ejemplo, la vía de señalización en la que esta molécula está implicada y las consecuencias funcionales que conlleva su deficiencia.

## CONCLUSIONES

La descripción de las inmunodeficiencias primarias de anticuerpos y de los defectos genéticos con los que se asocian ha dependido, en gran medida, de los hallazgos científicos que se derivan acerca de las células B, básicamente de las vías de señalización que favorecen su diferenciación, supervivencia y activación. Asimismo, la descripción de los defectos genéticos causantes de este tipo de deficiencias jamás habría sido posible sin los grandes descubrimientos que involucran la descripción de la estructura del ADN, el código genético, la secuenciación del genoma humano, así como el surgimiento de los métodos de secuenciación, la reacción en cadena de la polimerasa y, recientemente, la secuenciación masiva del ADN.

En la actualidad vivimos una explosión de deficiencias genéticas que causan una inmunodeficiencia primaria; vemos cómo cada individuo con este tipo de diagnóstico podría ser único en el mundo; tal es el caso reportado para las deficiencias IL21/IL21-R y BAFFR. El estudio de estas enfermedades ha contribuido, además, a identificar o ampliar el conocimien-

to de los mecanismos moleculares que tienen lugar durante la activación de las células del sistema inmunológico. El entendimiento de estos mecanismos facilitará, en un momento determinado, el diagnóstico de nuevos casos y el tratamiento de los mismos.

### Agradecimientos

Agradezco infinitamente a mi mentor, el Dr. Leopoldo Santos Argumedo, por incluirme en la participación del simposio para celebrar el 50 aniversario del descubrimiento del linfocito B. A los organizadores del evento (Sociedad Mexicana de Inmunología y al Departamento de Biología de la Facultad de Química, UNAM) y finalmente al CONACyT por los recursos que se me otorgaron para la realización de algunos de los proyectos que se mencionaron en este artículo.

### REFERENCIAS

- Casanova JL, Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science* 2007;317:617-619.
- Durandy A, Kracker S, Fischer A. Primary antibody deficiencies. *Nature Reviews Immunology* 2013;13:519-533.
- Glanzmann E, Riniker P. [Essential lymphocytophthisis; new clinical aspect of infant pathology]. *Annales Paediatrici International Review Pediatrics* 1950;175:1-32.
- Greenwood B. The contribution of vaccination to global health: past, present and future. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B. Biological Sciences* 2014;369:20130433.
- Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952;9:722-728.
- Bruton OC, Apt L, Gitlin D, Janeway CA. Absence of serum gamma globulins. *AMA American J Dis Children* 1952;84:632-636.
- Ochs HD, Hitzig WH. History of primary immunodeficiency diseases. *Current Op Allergy Clin Immunol* 2012;12:577-587.
- Rosen FS, Kevy SV, Merler E, Janeway CA, Gitlin D. Recurrent bacterial infections and dysgamma-globulinemia: deficiency of 7S gamma-globulins in the presence of elevated 19S gamma-globulins. Report of two cases. *Pediatrics* 1961;28:182-195.
- Mayer L, Kwan SP, Thompson C, Ko HS, et al. Evidence for a defect in "switch" T cells in patients with immunodeficiency and hyperimmunoglobulinemia M. *N Engl J Med* 1986;314:409-413.
- Janeway CA, Apt L, Gitlin D. Agammaglobulinemia. *Transactions of the Association of American Physicians* 1953;66:200-202.
- Gitlin D, Janeway CA. Agammaglobulinemia, congenital, acquired and transient forms. *Progress Hematol* 1956;1:318-329.
- Cooper MD, Faulk WP, Fudenberg HH, Good RA, et al. Classification of primary immunodeficiencies. *N Engl J Med* 1973;288:966-967.
- Crabbe PA, Heremans JF. Lack of gamma A-immunoglobulin in serum of patients with steatorrhea. *Gut* 1966;7:119-127.
- Schur PH, Borel H, Gelfand EW, Alper CA, Rosen FS. Selective gamma-g globulin deficiencies in patients with recurrent pyogenic infections. *N Engl J Med* 1970;283:631-634.
- Umetsu DT, Ambrosino DM, Quinti I, Siber GR, Geha RS. Recurrent sinopulmonary infection and impaired antibody response to bacterial capsular polysaccharide antigen in children with selective IgG-subclass deficiency. *N Engl J Med* 1985;313:1247-1251.
- Smith CI, Islam KB, Vorechovsky I, Olerup O, et al. X-linked agammaglobulinemia and other immunoglobulin deficiencies. *Immunol Rev* 1994;138:159-183.
- Giblett ER. ADA and PNP deficiencies: how it all began. *Ann NY Acad Sci* 1985;451:1-8.
- Raff MC, Megson M, Owen JJ, Cooper MD. Early production of intracellular IgM by B-lymphocyte precursors in mouse. *Nature* 1976;259:224-226.
- Sakaguchi N, Melchers F. Lambda 5, a new light-chain-related locus selectively expressed in pre-B lymphocytes. *Nature* 1986;324:579-582.
- Kudo A, Melchers F. A second gene, VpreB in the lambda 5 locus of the mouse, which appears to be selectively expressed in pre-B lymphocytes. *EMBO J* 1987;6:2267-2272.
- Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, Parolini O, et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993;72:279-290.
- Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, Holland J, et al. The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993;361:226-233.
- Spriggs MK, Armitage RJ, Strockbine L, Clifford KN, Macduff BM, et al. Recombinant human CD40 ligand stimulates B cell proliferation and immunoglobulin E secretion. *J Exp Med* 1992;176:1543-1550.
- Lederman S, Yellin MJ, Inghirami G, Lee JJ, et al. Molecular interactions mediating T-B lymphocyte collaboration in human lymphoid follicles. Roles of T cell-B-cell-activating molecule (5c8 antigen) and CD40 in contact-dependent help. *J Immunol* 1992;149:3817-3826.

25. Renshaw BR, Fanslow WC, 3rd, Armitage RJ, Campbell KA, et al. Humoral immune responses in CD40 ligand-deficient mice. *J Exp Med* 1994;180:1889-1900.
26. Ferrari S, Giliani S, Insalaco A, Al-Ghonaïum A, et al. Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12614-12619.
27. Yong PF, Thaventhiran JE, Grimbacher B. "A rose is a rose is a rose", but CVID is not CVID common variable immune deficiency (CVID), what do we know in 2011? *Advances Immunol* 2011;111:47-107.
28. Jolles S. The variable in common variable immunodeficiency: a disease of complex phenotypes. *J Allergy Clinical Immunol Practice* 2013;1:545-556; quiz 557.
29. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, Glocker E, et al. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol* 2003;4:261-268.
30. Vincent FB, Saulep-Easton D, Figgett WA, Fairfax KA, Mackay F. The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 2013;24:203-215.
31. Castigli E, Wilson SA, Garibyan L, Rachid R, et al. TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet* 2005;37:829-834.
32. Salzer U, Chapel HM, Webster AD, Pan-Hammarstrom Q, et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet* 2005;37:820-828.
33. Salzer U, Bacchelli C, Buckridge S, Pan-Hammarstrom Q, et al. Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes. *Blood* 2009;113:1967-1976.
34. Warnatz K, Salzer U, Rizzi M, Fischer B, et al. B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:13945-13950.
35. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, Castano D, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *N Engl J Med* 2006;354:1901-1912.
36. van Zelm MC, Smet J, Adams B, Mascart F, et al. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. *J Clin Invest* 2010;120:1265-1274.
37. Thiel J, Kimmig L, Salzer U, Grudzien M, et al. Genetic CD21 deficiency is associated with hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:801-810.
38. Cevik SI, Keskin N, Belkaya S, Ozlu MI, et al. CD81 interacts with the T cell receptor to suppress signaling. *PLoS one*. 2012;7:e50396.
39. Kotlarz D, Zietara N, Uzel G, Weidemann T, et al. Loss-of-function mutations in the IL-21 receptor gene cause a primary immunodeficiency syndrome. *J Exp Med* 2013;210:433-443.
40. Doganci A, Birkholz J, Gehring S, Puhl AG, et al. In the presence of IL-21 human cord blood T cells differentiate to IL-10-producing Th1 but not Th17 or Th2 cells. *Int Immunol* 2013;25:157-169.
41. Ombrello MJ, Remmers EF, Sun G, Freeman AF, et al. Cold urticaria, immunodeficiency, and autoimmunity related to PLCG2 deletions. *N Engl J Med* 2012;366:330-338.
42. Lucas CL, Kuehn HS, Zhao F, Niemela JE, et al. Dominant-activating germline mutations in the gene encoding the PI(3)K catalytic subunit p110delta result in T cell senescence and human immunodeficiency. *Nat Immunol* 2014;15:88-97.
43. Crank MC, Grossman JK, Moir S, Pittaluga S, et al. Mutations in PIK3CD can cause hyper IgM syndrome (HIGM) associated with increased cancer susceptibility. *J Clin Immunol*.2014;34:272-276.
44. Conley ME, Dobbs AK, Quintana AM, Bosompem A, et al. Agammaglobulinemia and absent B lineage cells in a patient lacking the p85alpha subunit of PI3K. *J Exp Med* 2012;209:463-470.
45. Lucas CL, Zhang Y, Venida A, Wang Y, et al. Heterozygous splice mutation in PIK3R1 causes human immunodeficiency with lymphoproliferation due to dominant activation of PI3K. *J Exp Med* 2014;211:2537-2547.
46. Kuehn HS, Ouyang W, Lo B, Deenick EK, et al. Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in CTLA4. *Science* 2014;345:1623-1627.
47. Schubert D, Bode C, Kenefack R, Hou TZ, et al. Autosomal dominant immune dysregulation syndrome in humans with CTLA4 mutations. *Nature Med* 2014;20:1410-1416.
48. Lopez-Herrera G, Tampella G, Pan-Hammarstrom Q, Herholz P, et al. Deleterious mutations in LRBA are associated with a syndrome of immune deficiency and autoimmunity. *Am J Human Gen* 2012;90:986-1001.
49. Charbonnier LM, Janssen E, Chou J, Ohsumi TK, et al. Regulatory T-cell deficiency and immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked-like disorder caused by loss-of-function mutations in LRBA. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:217-227.
50. Wang JW, Howson J, Haller E, Kerr WG. Identification of a novel lipopolysaccharide-inducible gene with key features of both A kinase anchor proteins and chs1/beige proteins. *J Immunol* 2001;166:4586-4595.
51. Wang JW, Gamsby JJ, Highfill SL, Mora LB, et al. Deregulated expression of LRBA facilitates cancer cell growth. *Oncogene* 2004;23:4089-4097.
52. Cullinane AR, Schaffer AA, Huizing M. The BEACH is hot: a LYST of emerging roles for BEACH-domain containing proteins in human disease. *Traffic* 2013;14:749-766.
53. Lopez-Herrera G, Berron-Ruiz L, Mogica-Martinez D, Espinosa-Rosales F, Santos-Argumedo L. Characterization of Bruton's tyrosine kinase mutations in Mexican patients with X-linked agammaglobulinemia. *Molecular Immunol* 2008;45:1094-1098.

54. Vargas-Hernandez A, Lopez-Herrera G, Maravillas-Montero JL, Vences-Catalan F, et al. Consequences of two naturally occurring missense mutations in the structure and function of Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase. *IUBMB life* 2012;64:346-353.
55. Vargas-Hernandez A, Berron-Ruiz L, Staines-Boone T, Zarate-Hernandez M, et al. Clinical and genetic analysis of patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Clinical Gen* 2013;83:585-587.
56. Berron-Ruiz L, Lopez-Herrera G, Vargas-Hernandez A, Mogica-Martinez D, et al. Lymphocytes and B-cell abnormalities in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Allergol Immunopathol* 2014;42:35-43.

**Fuentes electrónicas**

<http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>.



# Ontogenia de los linfocitos B

Juan Carlos Balandrán<sup>1,2</sup>, Rosana Pelayo<sup>1</sup>

## Resumen

El desarrollo de los linfocitos B a partir de células troncales hematopoyéticas es un proceso altamente regulado y continuo en el que se pierden gradualmente los potenciales de diferenciación múltiple y se adquieren funciones especializadas del linaje. A 50 años de su descubrimiento, el conocimiento actual de la diferenciación temprana de las células B proviene, en gran medida, del aislamiento y caracterización de los progenitores en la médula ósea que dan inicio al programa linfoide y de la definición de patrones de actividad transcripcional que controlan las decisiones de los destinos celulares. De especial relevancia ha sido la intercomunicación de los precursores con los componentes del microambiente hematopoyético para la generación de nuevos modelos que integren todos los elementos de regulación de este complejo proceso y para la comprensión de esta rama del sistema inmunológico adaptativo en la enfermedad. Esta revisión ofrece un panorama general del complejo proceso de diferenciación linfoide: la organización jerárquica y características biológicas de las células primitivas que participan en sus etapas más tempranas, hasta los principios que rigen su interdependencia con el microambiente hematopoyético.

**PALABRAS CLAVE:** linfocitos B, progenitores linfoides tempranos, médula ósea, microambiente hematopoyético, diferenciación linfoide.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):71-79.

## B lymphocyte ontogeny.

Juan Carlos Balandrán<sup>1,2</sup>, Rosana Pelayo<sup>1</sup>

## Abstract

The B cell development from hematopoietic stem cells is a continuous and highly regulated process where multiple differentiation potentials are gradually lost while acquiring lineage specialized functions. At 50 years of the B cell discovery, the current knowledge of its early differentiation largely derive from the isolation and characterization of bone marrow early progenitor cells initiating the lymphoid program, and from the definition of transcriptional activity patterns that control cell fate decisions. Of particular relevance has been the intercommunication between B cell precursors and key components of the hematopoietic microenvironment, both for generation of novel models integrating all regulatory elements of this complex process, and for the understanding of this branch of the adaptive immune system in disease settings. This review provides an overview of the complex process of lymphoid differentiation: from the hierarchical organization and biological characteristics of primitive cells involved in its earliest stages, to the principles governing its interdependence with the hematopoietic microenvironment.

**KEYWORDS:** B lymphocytes; early lymphoid progenitors; bone marrow; hematopoietic microenvironment; lymphoid differentiation

<sup>1</sup> Laboratorio de Linfopoyesis, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Coordinación de Investigación en Salud, Hospital de Oncología, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

<sup>2</sup> Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.

Recibido: 12 de octubre 2015

Aceptado: 18 de enero 2016

## Correspondencia

Dra. Rosana Pelayo  
rosanapelayo@gmail.com

## Este artículo debe citarse como

Balandrán JC, Pelayo R. Ontogenia de los linfocitos B. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):71-79.

## ANTECEDENTES

A lo largo de la historia, el campo de la inmunología del desarrollo de los linfocitos B ha progresado paralelamente, aunque en dirección opuesta al de la biología de las células troncales hematopoyéticas. Mientras que en el primer caso la búsqueda de los progenitores tempranos en la médula ósea evolucionó a partir de los hallazgos funcionales en las células maduras, en el segundo, la identificación de las células seminales determinó el establecimiento de los principios básicos de diferenciación de los sistemas complejos y la construcción de modelos hematopoyéticos jerárquicos basados en estadios críticos de diferenciación, compromiso y maduración de los progenitores y precursores. Así, el conocimiento generado en la interfase entre la inmunología y la hematología ha tenido la más notable contribución en la ontogenia de los linfocitos B.

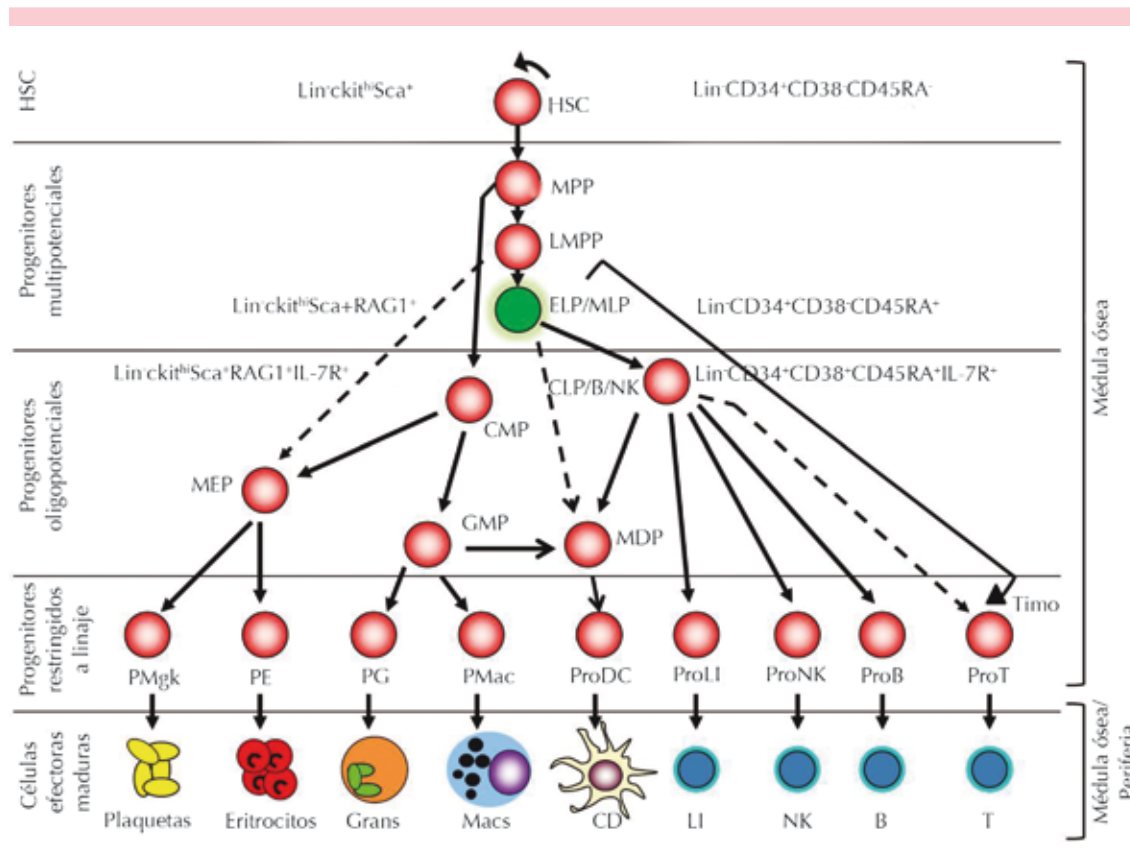
En 1965 se reconoció la conspicua población de células B como un linaje hematopoyético linfoide distinto, con un papel central en la respuesta inmunitaria adaptativa y características funcionales únicas,<sup>1,2</sup> pero no fue hasta 32 años después cuando la clonación del progenitor linfoide común de ratón dio inicio a la elucidación de su origen celular.<sup>3</sup> Los años intermedios fueron clave en la determinación de sus cinéticas de proliferación y el descubrimiento de la composición y mecanismos moleculares de expresión de sus receptores de antígeno (BCR),<sup>4-6</sup> en tanto que los subsecuentes establecieron que la enzima recombinasa RAG1 marca el inicio del programa de diferenciación linfoide.<sup>7-9</sup> La recombinación somática, así como las cascadas de señalización implicadas en la activación linfocitaria, fueron piedras angulares para ambas piezas del conocimiento.<sup>6,10,11</sup>

### Los primeros pasos hacia el compromiso linfoide

La hematopoyesis es el proceso de generación de los más de 10 tipos celulares del tejido sanguíneo.

La demostración en 1961 de su origen clonal en una célula troncal<sup>12-15</sup> y posteriormente de las propiedades biológicas que definen a esta célula, autorrenovación y potencial de diferenciación múltiple, establecieron el paradigma de la diferenciación celular a partir de sistemas altamente complejos y organizados.<sup>11,15,16</sup> Por un lado, la identificación fenotípica de las células troncales hematopoyéticas en el hígado fetal y en la médula ósea adulta del ratón,<sup>17</sup> y por otro, la intensa explotación de modelos experimentales para el estudio de su potencial y su regulación impulsaron la construcción de mapas jerárquicos de diferenciación. En ellos, el desarrollo linfopoyético temprano es guiado por combinaciones de factores intrínsecos y microambientales que impulsan la pérdida gradual de opciones de diferenciación en paralelo con una ganancia de funciones especializadas.<sup>8,9,11</sup> Al menos cinco grandes compartimientos se han identificado en esos mapas: el de las células troncales, el de los progenitores multipotenciales, el de los progenitores oligopotenciales, el de los precursores y el de las células maduras (Figura 1).

El primer compartimiento corresponde a las células más primitivas: las células troncales hematopoyéticas. Su aptitud clonal para reconstituir a largo plazo el sistema hematopoyético de animales de experimentación irradiados e inmunodeficientes les merece el nombre de LT-HSC (*long term hematopoietic stem cells*). En el ratón, éstas residen en la fracción LSK (por su fenotipo Lin<sup>-</sup>Sca1<sup>+</sup>c-kit<sup>hi</sup>), constituyendo aproximadamente 0.1% del total celular de la médula ósea, en donde coexisten todas las poblaciones que carecen de expresión de marcadores de linajes maduros, que incluyen CD3, CD8, CD19, CD20, NK1.1, CD11b, CD14 o Ter119.<sup>8,9,16</sup> En humanos, el antígeno CD34 ha resultado el principal marcador para las células troncales hematopoyéticas y los progenitores multi y oligopotenciales. De las células hematopoyéticas en médula ósea humana, 0.5-5% expresan CD34 y sólo una pequeña fracción (1-10%) de las células Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> está enriquecida en



**Figura 1.** Ontogenia de los linfocitos B en el contexto jerárquico de diferenciación hematopoyética. La hematopoyesis inicia en una célula troncal, a partir de la que se diferencian de manera gradual y continua los progenitores que restringen su compromiso de linaje. El mapa muestra los cinco compartimentos que componen el sistema hematopoyético, así como las características fenotípicas más relevantes de las subpoblaciones en diferenciación provenientes de ratón (izquierda) y humano (derecha).

HSC: célula troncal hematopoyética; MPP: progenitor multipotencial; LMPP: progenitor multipotencial pre-dispuesto al linaje linfoide; ELP: progenitor linfoide temprano; MLP: progenitor multilineoide; CLP: progenitor linfoide común; B/NK: progenitor de células B y NK; CMP: progenitor mielóide común; MEP: progenitor de megacariocitos y eritrocitos; GMP: progenitor granulocítico y monocítico; MDP: progenitor de macrófagos y células dendríticas; LI: linfocitos innatos.

Modificada de las referencias 14 y 15.

células troncales con capacidad de reconstituir a largo plazo el sistema hematopoyético (Figura 1).<sup>15</sup> Estas células expresan, además, antígenos como CD90, CD117, CD133 y VEGFR2, que las distinguen de células en estadios de diferenciación más avanzados. De manera notable, el descubrimiento y caracterización biológica de las células troncales hematopoyéticas ha trascendido

en tal magnitud que su uso para la regeneración de tejidos y el rescate funcional en enfermedades hematopoyéticas e inmunológicas ha revolucionado la Medicina moderna.

Las células troncales hematopoyéticas dan origen a los progenitores multipotenciales, que conforman el segundo compartimento y el más

heterogéneo del sistema. En éste, los progenitores han perdido la capacidad de autorrenovación y la de reconstitución a largo plazo. En el ratón, los estadios de transición progenitor multipotencial predispuesto al linaje linfóide y progenitor linfóide temprano (*early lymphoid progenitors*) son el inicio del programa de diferenciación linfóide, evidente por la expresión de la enzima recombinasa RAG1. Sus contrapartes en el humano aparentemente residen en la fracción de progenitores multilinfoides (*multi-lymphoid progenitors*). Río abajo, la vía avanza hacia los progenitores oligopotenciales, que han incrementado su capacidad de proliferación, pero sus potenciales de diferenciación se restringen a dos o tres tipos celulares. Aunque comparten ciertas características fenotípicas con las células de los compartimentos anteriores, estos progenitores tienen patrones de expresión antigénica de acuerdo con el programa de diferenciación que inicia (Figura 1). A pesar de su inmadurez, las células que residen en el acervo de precursores unipotenciales son altamente proliferativas y reconocibles por su morfología a través de microscopía de luz. Este compartimento contiene más de 90% de las células hematopoyéticas residentes en la cavidad de la médula ósea.<sup>15</sup> Por último, las células terminalmente diferenciadas y en vías de maduración son morfológica, fenotípica y funcionalmente distintas y se dividen en dos grandes grupos: mieloides y linfoides. Las primeras comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, macrófagos, eritrocitos, megacariocitos, células cebadas y células dendríticas mieloides, mientras que las segundas comprenden a los linfocitos B, los linfocitos T y diversas subpoblaciones de células innatas, incluidas las células NK, las células linfoides innatas (o linfocitos innatos) y algunas categorías de células dendríticas de origen linfóide. Las células de linaje mielóide son producidas a través de un proceso dinámico conocido como mielopoyesis, en tanto que las de linaje linfóide son consecuencia de la linfopoyesis.

### Progenitores linfoides de células B: luz a través de los ratones RAG1-GFP

La población de progenitores multipotenciales predispuestos al linaje linfóide contiene progenitores clonales con un potencial combinado de células B, T y mielóide,<sup>18</sup> así como restringidos a linajes de B o T, y productores de células NK. La regulación negativa de la molécula de adhesión VCAM-1<sup>19</sup> y la transcripción del locus de la enzima que recombina los segmentos genéticos VDJ de la inmunoglobulina y del TCR, la recombinasa RAG1, marcan a las células que apenas inician el programa de diferenciación hacia la estirpe linfóide.<sup>7</sup> Por ello, los ratones *knockin* RAG1/GFP se constituyeron como una herramienta particularmente útil en la investigación del proceso de linfopoyesis temprana,<sup>7,16,20-22</sup> y permitieron el aislamiento y caracterización de los progenitores linfoides más tempranos en el hígado fetal y en médula ósea de los que se tiene conocimiento: los progenitores linfoides tempranos. En ese modelo, un alelo del gen RAG1 se reemplazó por la secuencia que codifica la proteína verde fluorescente y fue posible localizar la señal de fluorescencia por análisis de citometría de flujo, que corresponde con la transcripción del gen RAG1.<sup>7,20</sup> Las células que expresan RAG-1 pueden clasificarse en una serie de estadios de diferenciación, comenzando con la fracción  $c\text{-kit}^{\text{hi}}\text{Sca1}^+\text{GFP}^{\text{lo}}$  y culminando con subpoblaciones  $\text{GFP}^{\text{hi}}$ . En el hígado fetal y en la médula ósea adulta, las células troncales y los progenitores mieloides residen en la fracción  $\text{GFP}^-$ , mientras que los progenitores linfoides en la  $\text{GFP}^+$ . Los progenitores linfoides tempranos son parte de la población LSK, de fenotipo  $\text{Lin}^-c\text{-kit}^{\text{hi}}\text{Sca-1}^+\text{Thy1.1}^- \text{IL7-R-TdT}^+\text{CD27}^+\text{Flt3}^+$  y altamente sensibles al tratamiento con estrógenos.<sup>7,16,23</sup> Su potencial para generar todas las líneas de células linfoides es muy alto, así como para producir células del sistema inmunológico innato linfóide, pero el potencial de diferenciación mielóide es reducido. Acorde con estas características, los progenitores linfoides tempranos transcriben genes asociados

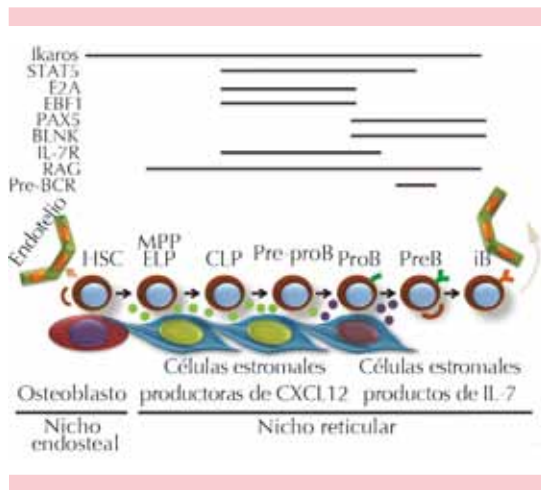
con linajes linfoides como *gata-3*, *ebf*, *b29* y dan origen a la fracción de pro-linfocitos Lin<sup>-</sup>ckit<sup>lo</sup>Sca-1<sup>+</sup>Thy1.1-Flt3<sup>+</sup>GFP<sup>+</sup>, que desregula la expresión de c-kit e incluye a la mayor parte de los progenitores linfoides comunes o CLP (*common lymphoid progenitors*). La participación de estos progenitores está marcada por la expresión en superficie del receptor de IL-7 (IL-7R) y su distintiva señalización por STAT5, y aunque tienen cierta actividad clonogénica de T, B y NK (lo que originalmente les valió su designación), se reconocen como los más eficientes precursores de linfocitos B.<sup>24</sup>

### De la “fracción A” al BCR y la migración periférica

Otro parteaguas en la construcción del mapa de diferenciación linfoide se estableció con los trabajos de Hardy, en 1991, en los que se identificaron las principales subpoblaciones con participación de linaje B en la médula ósea y se propuso un esquema secuencial de diferenciación río abajo de los progenitores linfoides comunes.<sup>25,26</sup> El compartimento celular más primitivo exhibía un fenotipo B220<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>CD43<sup>+</sup>CD24<sup>-/lo</sup> y se denominó fracción A. Esta fracción comprende tres subpoblaciones definidas no yuxtapuestas: DX5<sup>-</sup>Ly6C<sup>+</sup> (45-55%), DX5<sup>+</sup>Ly6C<sup>-</sup> (30-35%) y DX5<sup>-</sup>Ly6C<sup>-</sup> (16-20%), de las que sólo la última tiene potencial precursor de células B<sup>16,27,28</sup> y se denominó pre-proB. La caracterización reciente de células de linaje no-B dentro de las otras dos subpoblaciones (DX5<sup>-</sup>Ly6C<sup>+</sup> y DX5<sup>+</sup>Ly6C<sup>-</sup>) y sus controvertidos orígenes incrementaron la complejidad del sistema linfohematopoyético. Dos categorías de células dendríticas plasmacitoides (pDC) residen entre las DX5<sup>-</sup>Ly6C<sup>+</sup> de la fracción A que expresan CD11c,<sup>29</sup> mientras que la subpoblación cohorte DX5<sup>+</sup>Ly6C<sup>-</sup> contiene células que coexpresan el marcador NK1.1 y que se identifican como IKDC (*interferon-producing killer dendritic cells*) con poderosa capacidad citotóxica y antitumoral, así como de producción de IFN- $\gamma$ .<sup>22</sup>

En conclusión, parte de la fracción A corresponde a células del sistema inmunológico innato, como las pDCs, NKs e IKDCs, que tienen su origen en progenitores linfoides tempranos y cuyo brazo de diferenciación aparentemente es previo e independiente de la participación de los precursores en la ruta de células B pre-proB. Hay grandes expectativas acerca de la posible inclusión de otras células linfoides innatas de reciente descubrimiento dentro de la fracción A de Hardy.

La regulación positiva de CD19 es uno de los sellos más tempranos del compromiso del linaje B, que participa en la transducción de señales de las células en el proceso de diferenciación. Las células denominadas pre-proB residentes en la fracción A2 de Hardy expresan IgH en línea germinal, además de genes que codifican para componentes de los receptores pre-B y B, como mb-1, B29 y I $\delta$ , y factores de transcripción necesarios para la diferenciación, como Pax5 y E47 (Figura 2). Las señales de IL-7 son críticas en esta transición, como lo indica el bloqueo profundo en el desarrollo de B a nivel de la fracción A2 de la médula ósea de ratones deficientes en IL-7R.<sup>29-31</sup> Los subsecuentes estadios independientes de antígeno son guiados con la finalidad de expresar moléculas de inmunoglobulina funcionales en membrana y, de manera orquestada, diversos factores de transcripción están implicados en esta ruta (Figura 2). De ellos, PU.1, Ikaros, E2A, Bcl11a, EBF y Pax5 participan en la determinación del compromiso, la especificación del linaje o ambos. La deficiencia de PU.1 resulta en que Flt3 y EBF no sean expresados, bloqueando la diferenciación de células B.<sup>32</sup> E2A es decisivo para la activación de RAG, y sus productos, directa o indirectamente, regulan la expresión de Pax5, que a su vez regula la expresión de genes específicos de células B, incluyendo CD19.<sup>11,16</sup> Además, un número de genes que participan en la señalización del receptor pre-B, como mb-1,  $\delta$ 5, VpreB y B29, así



**Figura 2.** Regulación intrínseca y microambiental del desarrollo temprano del linaje B. En la médula ósea, la transición de los estados de diferenciación linfoide B depende de los programas genéticos en concordancia con señales proporcionadas por el microambiente hematopoyético. Las células estromales altamente productoras de CXCL12 conforman los nichos linfoides tempranos, en tanto que su contraparte productora de IL-7 sostiene las etapas precursoras proB. Las células preB adquieren independencia de IL-7 concomitante a la formación del pre-BCR. La producción de células B inmaduras va acompañada de su migración a la periferia. Se muestran los factores de transcripción que participan más activamente en la vía de diferenciación de linfocitos B.

HSC: célula troncal hematopoyética; MPP: progenitor multipotencial; ELP: progenitor linfoide temprano; CLP: progenitor linfoide común.  
Modificada de la referencia 11.

como RAG1/2 y TdT requeridos para el rearreglo de inmunoglobulinas, son blancos potenciales para las secuencias de unión a ADN de E2A.<sup>33</sup> EBF comienza su expresión en los progenitores linfoides tempranos y en coordinación con los productos de E2A, EBF es clave en el control previo al rearreglo de genes de inmunoglobulina.<sup>32</sup>

Por último, la función de Pax5 es esencial para la represión de la transcripción de genes no linfoides y no B.<sup>34,35</sup> Entonces, en esta red de

regulación, el desarrollo de progenitores multipotentes es dependiente de PU.1 e Ikaros, mientras que la especificación y el compromiso de las células pro-B son dependientes de E2A/EBF y Pax5.

En humanos, a partir del progenitor de células B y NK (B/NK) se derivan las células pro-B con fenotipo CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup> y de ahí secuencialmente las pre-BI grandes CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>, pre-BII grandes CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>, pre-BII pequeñas CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>, B inmaduras CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>sIgM<sup>+</sup> hasta la producción de B maduras CD34<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>sIgM<sup>+</sup>sIgD<sup>+</sup>, que a la larga se exportarán a los tejidos linfoides periféricos para cumplir su función de reconocimiento de antígeno, activación y producción de anticuerpos específicos.<sup>15</sup> La linfopoyesis de B en humanos parece cumplirse sin el estricto requerimiento de la IL-7.

### El microambiente hematopoyético en la regulación de la linfopoyesis de B

Las células primitivas y las terminalmente diferenciadas crecen en estrecha comunicación con el microambiente de la médula ósea y en exposición a combinaciones y concentraciones variables de citocinas.<sup>15</sup> La contribución de células estromales, osteoblastos y células endoteliales en los distintos estadios de diferenciación linfo-hematopoyética es decisiva.<sup>36-38</sup> El microambiente especializado que sostiene a las células troncales constituye el nicho hematopoyético que promueve el mantenimiento de las células troncales hematopoyéticas a lo largo de la vida. Se propone que para que un microambiente se considere nicho deben satisfacerse dos criterios: que en él resida la célula progenitora *in vivo* y que promueva su mantenimiento. A la luz del conocimiento actual existen al menos tres tipos de nichos: el osteoblástico, el vascular y el reticular. El primero de ellos está en el endosteo y da soporte a través de los osteoblastos

a las células troncales hematopoyéticas.<sup>38</sup> Los osteoblastos proveen señales reguladoras de la quiescencia a la población de células troncales hematopoyéticas a través de la vía no canónica de Wnt, angiopoyetina, trombopoyetina, SDF-1/CXCL12 y osteopontina. Por su parte, el nicho vascular reside alrededor de los sinusoides y a través de su endotelio las células hematopoyéticas pueden entrar y salir de la circulación. Este nicho es aparentemente inductor. En el lumen de la médula ósea tiene lugar la mayor parte de los procesos de diferenciación linfóide temprana. El ambiente perivascular está marcado por células reticulares altamente productoras de CXCL12 y de IL-7 que promueven la diferenciación de los precursores B (Figura 2). Además, otras células, como las mesenquimales con potencial para generar hueso, cartílago y grasa, son reguladores esenciales de la hematopoyesis normal.<sup>37,38</sup> El nicho endosteal CXCL12+ Nestin+, y posiblemente el endotelial, mantienen a las células troncales hematopoyéticas en ciclos de prolongada quiescencia en los que alrededor de 70% de las células están en  $G_0$ , presumiblemente debido a la expresión de factores genéticos intrínsecos que inhiben el ciclo celular, como p21 y pTEN, así como a la actividad de diversas moléculas de anclaje.<sup>39-41</sup> Diversos estudios indican que la mayor parte de los progenitores linfoides tempranos pasan también un tiempo considerable en  $G_0$ <sup>15</sup> en nichos de células estromales CXCL12+, llamadas CAR (*CXCL12-abundant reticular cells*)<sup>42,43</sup> y que esta condición quiescente puede ser importante en el control del tamaño de la población y para la integridad de las células que reabastecen el sistema inmunológico a lo largo de la vida.<sup>16</sup> De especial importancia es la estrecha comunicación y dependencia del estadio temprano pre-proB y el más tardío de células plasmáticas a las células CAR, mientras que en la etapa proB la dependencia está relacionada con células estromales que producen IL-7 (Figura 2). La relevante investigación de Nagasawa y colaboradores sugiere entonces

que en la médula ósea las células CAR constituyen los nichos del desarrollo de células B y que la investigación del papel de CXCL12 en la patobiología de las enfermedades de este linaje —leucemias, linfomas y mielomas— será prioridad de la investigación biomédica en los años venideros. Para lograrlo, debe considerarse que la arquitectura tridimensional de los nichos es decisiva para la adecuada regulación del proceso hematopoyético, por lo que existe un especial interés por el desarrollo y aplicación de modelos de estudio tridimensionales (3D), así como la construcción de organoides que promuevan las interacciones que inician y mantienen los procesos de diferenciación de los precursores B, tanto en la normalidad como en emergencia hematopoyética.

### Perspectivas

Por su importancia para la práctica clínica, posiblemente una de las prioridades del mundo biomédico será definir los mecanismos que perturban los patrones de diferenciación temprana de las células B en circunstancias patológicas de inflamación, autoinmunidad, inmunodeficiencias y cáncer. Nuevas y poderosas plataformas de estudio, experimentales y teóricas, que consideren la complejidad de la intercomunicación hematopoyético-microambiental, serán indispensables para el cumplimiento de esta labor.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento de sus investigaciones acerca de Células troncales y diferenciación linfóide proveniente de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

### REFERENCIAS

1. Cooper MD. The early history of B cells. *Nature Reviews Immunology* 2015;15:191-197.

2. Cooper MD, Peterson RD, Good RA. Delineation of the Thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature* 1965;205:143-146.
3. Kondo M, Weissman IL, Akashi K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell* 1997;91:661-672.
4. Kincade PW, Lawton AR, Cooper MD. Restriction of surface immunoglobulin determinants to lymphocytes of the plasma cell line. *J Immunol* 1971;106:1421-1423.
5. Osmond DG, Nossal GJ. Differentiation of lymphocytes in mouse bone marrow. II. Kinetics of maturation and renewal of antiglobulin-binding cells studied by double labeling. *Cel Immunol* 1974;13:132-145.
6. Sakano H, Maki R, Kurosawa Y, Roeder W, Tonegawa S. Two types of somatic recombination are necessary for the generation of complete immunoglobulin heavy-chain genes. *Nature* 1980;286:676-683.
7. Igarashi H, Gregory SC, Yokota T, Sakaguchi N, Kincade PW. Transcription from the RAG1 locus marks the earliest lymphocyte progenitors in bone marrow. *Immunity* 2002;17:117-130.
8. Pelayo R, Welner R, Perry SS, Huang J, et al. Lymphoid progenitors and primary routes to becoming cells of the immune system. *Current Opin Immunol* 2005;17:100-107.
9. Baba Y, Pelayo R, Kincade PW. Relationships between hematopoietic stem cells and lymphocyte progenitors. *Trends Immunol* 2004;25:645-649.
10. Reth M, Nielsen P. Signaling circuits in early B-cell development. *Advances in Immunology* 2014;122:129-175.
11. Pelayo R, Dorantes-Acosta E, Vadillo E, Fuentes-Panana EM. From HSC to B-lymphoid cells in normal and malignant hematopoiesis: InTech, 2012.
12. Till JE, Mc CE. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research* 1961;14:213-222.
13. Dick JE. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* 2008;112:4793-4807.
14. Seita J, Weissman IL. Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2010;2:640-653.
15. Vadillo E, Pelayo R. El sistema hematopoyético a partir de células troncales. In: Pelayo R, editor. *Células Troncales y Medicina Regenerativa*. Mexico: PUIS, 2011;143-171.
16. Welner RS, Kincade PW, Pelayo R. Linfopoyesis temprana en médula ósea adulta. *Inmunología* 2007;26:135-144.
17. Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 1988;241:58-62.
18. Mansson R, Hultquist A, Luc S, Yang L, et al. Molecular evidence for hierarchical transcriptional lineage priming in fetal and adult stem cells and multipotent progenitors. *Immunity* 2007;26:407-419.
19. Lai AY, Lin SM, Kondo M. Heterogeneity of Flt3-expressing multipotent progenitors in mouse bone marrow. *J Immunol* 2005;175:5016-5023.
20. Yokota T, Kouro T, Hirose J, Igarashi H, et al. Unique properties of fetal lymphoid progenitors identified according to RAG1 gene expression. *Immunity* 2003;19:365-375.
21. Perry SS, Welner RS, Kouro T, Kincade PW, Sun XH. Primitive lymphoid progenitors in bone marrow with T lineage reconstituting potential. *J Immunol* 2006;177:2880-2887.
22. Welner RS, Pelayo R, Garrett KP, Chen X, et al. Interferon-producing killer dendritic cells (IKDCs) arise via a unique differentiation pathway from primitive c-kitHiCD62L+ lymphoid progenitors. *Blood* 2007;109:4825-4931.
23. Medina KL, Garrett KP, Thompson LF, Rossi MI, et al. Identification of very early lymphoid precursors in bone marrow and their regulation by estrogen. *Nature Immunology* 2001;2:718-724.
24. Kondo M, Wagers AJ, Manz MG, Prohaska SS, et al. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application. *Ann Rev Immunol* 2003;21:759-806.
25. Hardy RR, Carmack CE, Shinton SA, Kemp JD, Hayakawa K. Resolution and characterization of pro-B and pre-pro-B cell stages in normal mouse bone marrow. *J Exp Med* 1991;173:1213-1225.
26. Rumpf LL, Zhou Y, Rowley BM, Shinton SA, Hardy RR. Lineage specification and plasticity in CD19- early B cell precursors. *J Exp Med* 2006;203:675-687.
27. Li YS, Wasserman R, Hayakawa K, Hardy RR. Identification of the earliest B lineage stage in mouse bone marrow. *Immunity* 1996;5:527-535.
28. Tudor KS, Payne KJ, Yamashita Y, Kincade PW. Functional assessment of precursors from murine bone marrow suggests a sequence of early B lineage differentiation events. *Immunity* 2000;12:335-345.
29. Pelayo R, Hirose J, Huang J, Garrett KP, et al. Derivation of 2 categories of plasmacytoid dendritic cells in murine bone marrow. *Blood* 2005;105:4407-4415.
30. Allman D, Li J, Hardy RR. Commitment to the B lymphoid lineage occurs before DH-JH recombination. *J Exp Med* 1999;189:735-740.
31. Pelayo R, Welner RS, Nagai Y, Kincade PW. Life before the pre-B cell receptor checkpoint: specification and commitment of primitive lymphoid progenitors in adult bone marrow. *Semin Immunol* 2006;18:2-11.
32. Medina KL, Pongubala JM, Reddy KL, Lancki DW, et al. Assembling a gene regulatory network for specification of the B cell fate. *Develop Cell* 2004;7:607-617.
33. Sun XH. Multitasking of helix-loop-helix proteins in lymphopoiesis. *Adv Immunol* 2004;84:43-77.
34. Nutt SL, Heavey B, Rolink AG, Busslinger M. Commitment to the B-lymphoid lineage depends on the transcription factor Pax5. *Nature* 1999;401:556-562.



35. Busslinger M. Transcriptional control of early B cell development. *Ann Rev Immunol* 2004;22:55-79.
36. Blom B, Spits H. Development of human lymphoid cells. *Ann Rev Immunol* 2006;24:287-320.
37. Pelayo R, Miyazaki K, Huang J, Garrett KP, et al. Cell cycle quiescence of early lymphoid progenitors in adult bone marrow. *Stem Cells* 2006;24:2703-2713.
38. Passegue E, Wagers AJ, Giuriato S, Anderson WC, Weissman IL. Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitor cell fates. *J Exp Med* 2005;202:1599-1611.
39. Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity* 2006;25:977-988.
40. Ehninger A, Trumpp A. The bone marrow stem cell niche grows up: mesenchymal stem cells and macrophages move in. *J Exp Med* 2011;208:421-428.
41. Suda T, Arai F, Hirao A. Hematopoietic stem cells and their niche. *Trends Immunol* 2005;26:426-433.
42. Nagasawa T. CXCL12/SDF-1 and CXCR4. *Frontiers Immunol* 2015;6:301.
43. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development. *Nature Rev Immunol* 2006;6:107-116.

## El protocolo de investigación II: los diseños de estudio para investigación clínica

Miguel Ángel Villasís-Keever<sup>1</sup>, María Guadalupe Miranda-Novales<sup>2</sup>

### Resumen

En la investigación clínica que se realiza en el área de la salud, la mayor parte de los estudios se hacen en los seres humanos. Entre los principales objetivos están conocer las características de uno o más grupos de estudio, el comportamiento, la o las causas de las enfermedades, identificar las mejores herramientas para el diagnóstico o definir el mejor tratamiento contra una enfermedad en particular. Además, existen otros tipos de investigación que pueden clasificarse como investigación biomédica básica; en este tipo de estudios, el objetivo lo constituyen los animales de laboratorio, células, tejidos o moléculas. En términos generales, en estos estudios, los propósitos son, entre otros: la determinación de la fisiología, patogenia o los mecanismos biológicos en cuanto a las funciones o alteraciones de uno o más órganos o sistemas. En esta sección nos enfocaremos a los diseños de estudio en investigación clínica.

**PALABRAS CLAVE:** diseños de estudio, investigación clínica.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):80-90.

## The research protocol II: study designs in clinical research.

Miguel Ángel Villasís-Keever<sup>1</sup>, María Guadalupe Miranda-Novales<sup>2</sup>

### Abstract

In clinical research that takes place in health-care areas, most of the studies are performed with human beings as research subjects. The main objectives of these studies are to know the characteristics of one or more groups, the behavior of human diseases, the etiology or causes of diseases, to identify the best diagnostic tools, or to establish the best treatment for a condition or disease in particular. Additionally, some studies are classified as basic bio-medical research; in these investigations, the subjects of study are laboratory animals, tissues, cells, or molecules. In general terms, the objectives of these studies are to understand the physiology, pathogenesis, or biological mechanisms that could explain functions or alterations in one or more systems or body organs. This article will only address clinical research designs.

**KEYWORDS:** study designs; clinical research

<sup>1</sup> Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica.

<sup>2</sup> Unidad de Investigación en Epidemiología Hospitalaria.

Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Coordinación de Investigación en Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Recibido: 18 de enero 2016

Aceptado: 19 de enero 2016

### Correspondencia

Dra. María Guadalupe Miranda Novales  
guadalumiranda@terra.com.mx

### Este artículo debe citarse como

Villasís-Keever MA, Miranda-Novales MG. El protocolo de investigación II: los diseños de estudio para investigación clínica. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):80-90.

### Diseños de estudio en investigación clínica

La elección de un diseño en específico para dar respuesta a una interrogante mediante un estudio de investigación debe basarse en el planteamiento adecuado de esa pregunta, en los posibles alcances de la investigación y tomar en cuenta los recursos disponibles con los que se cuenta. Para clasificar los diseños de investigación es importante identificar sus componentes y características; ambos se utilizan para describir a los estudios, pero no son *per se* diseños metodológicos de un estudio.

### Componentes de los estudios de investigación

Los componentes que pueden identificarse en cualquier estudio de investigación son: 1) número de mediciones, 2) número de grupos en el estudio, 3) si existe una intervención o no por el investigador, 4) el momento o tiempo en que ocurre el fenómeno o lo que se desea estudiar, y 5) la manera de recolectar los datos. Al tener en cuenta estos cinco componentes, los estudios pueden clasificarse de la siguiente manera:

1) De acuerdo con el número de mediciones, un estudio se denomina *transversal o longitudinal*. Si existe una sola medición se denomina transversal; si se realizan dos o más evaluaciones de un mismo aspecto o variable, entonces es longitudinal.

2) De acuerdo con el número de grupos, los estudios pueden ser *descriptivos o analíticos* (también llamados *comparativos*). Cuando sólo se incluye un grupo de estudio se denominan descriptivos y si hay dos o más grupos, comparativos o analíticos. En un estudio comparativo se contrastará una o más variables entre los grupos incluidos. En los estudios descriptivos solamente se narran las variables de interés en el grupo seleccionado.

3) De acuerdo con la existencia o no de una maniobra, en *observacionales o experimentales*. En

los estudios observacionales, los investigadores recaban los datos o variables de los fenómenos a estudiar en uno o más grupos, pero no existe participación o modificación de las variables. En los estudios experimentales los investigadores registrarán los resultados después de realizar una intervención (medicamento, cirugía, maniobra educativa, etc.) que se aplica a uno o más grupos.

4) De acuerdo con el momento en que ocurre el fenómeno a estudiar, en *prospectivos o retrospectivos*. La interpretación de estos términos ha cambiado; sin embargo, el significado original de un estudio prospectivo es aquél en el que los investigadores tratan de determinar la posibilidad de que ocurra un evento o desenlace (por ejemplo, la muerte) a partir de una causa (por ejemplo, infarto de miocardio). En este diseño, los investigadores primero identifican la causa y vigilan durante un tiempo a los pacientes para conocer si tendrán o no el desenlace; es decir, es un estudio de causa a efecto. En el caso de los estudios retrospectivos, la situación es inversa: los investigadores tienen un grupo de sujetos donde ya sucedió el desenlace y van a buscar la causa o los factores de riesgo que se relacionaron con la ocurrencia del desenlace; es decir, son estudios del efecto a la causa.

5) De acuerdo con la manera de recolección, en *prolectivos o retrolectivos*. Para evitar las posibles confusiones relacionadas con los conceptos de prospectivo o retrospectivo, se consideró que era necesario diferenciar las fuentes de recolección de datos para efectuar la investigación. De esta manera, un estudio prolectivo será aquél en el que se empezará a recabar información a partir del momento de inicio del estudio; por el contrario, en los retrolectivos, los investigadores tomarán los datos o variables de estudio a partir de fuentes secundarias. De estos últimos, lo más común en la investigación clínica es la revisión de expedientes clínicos, pero también pueden ser archivos históricos, reportes de otras encues-

tas, estadísticas vitales de unidades médicas, regiones o ciudades.

Al tomar en cuenta las componentes y características de los estudios de investigación, se clasifican en los siguientes tipos:

a) *Ensayos clínicos*: se realizan cuando se evalúa si la intervención (variable independiente) modifica uno o más fenómenos (variable dependiente). En este tipo de estudios, lo más importante es la intervención; al grupo al que se le asigna la misma se denomina grupo experimental y el grupo que no la recibe es el grupo control. En los ensayos clínicos, la medición de las variables de interés es de manera prolectiva y se hacen una o más mediciones. De esta manera, se puede decir que un ensayo clínico es un estudio experimental, comparativo, longitudinal y prolectivo. En general, este tipo de estudios no tiene como propósito determinar factores de riesgo o causas, por lo que los términos prospectivo o retrospectivo no se utilizan.

b) *Estudio de cohorte(s)*: este tipo de diseño se utiliza cuando se buscan factores de riesgo o se trata de definir el curso clínico o pronóstico de las enfermedades. Los investigadores no asignan alguna intervención, por lo que son estudios observacionales. Debido a que se realizan comparaciones entre dos o más grupos, se consideran analíticos. Si el objetivo del estudio es identificar causas de la aparición de enfermedades, entonces son prospectivos, debido a que parte de la exposición (o la ausencia de la misma) a los factores de riesgo o causas (variables independientes) y después de un tiempo se manifiesta u ocurre la enfermedad (variable dependiente o de resultado).

#### **Diseños de investigación de acuerdo con su propósito**

- Para determinar la frecuencia, prevalencia o incidencia.

- De tratamiento o terapia, cuando se trata de evaluar si una intervención (por ejemplo, un fármaco, una cirugía, una vacuna o una acción educativa) sirve para mejorar o prevenir una o más condiciones clínicas.
- De prueba diagnóstica, si la intención es establecer la utilidad de un examen (por ejemplo, pruebas de laboratorio, radiografías o tomografías) para identificar y descartar una enfermedad, o bien, una complicación determinada.
- De pronóstico, cuando la finalidad es conocer la evolución de un grupo de sujetos durante un periodo con alguna enfermedad o cierta característica, hasta que sobrevenga el desenlace de interés.
- De causalidad, cuando se desea identificar la causa o los factores que se asocian con la aparición de una enfermedad o una complicación.

Asimismo, se debe hacer una mención especial de un tipo de estudio denominado revisión sistemática o metanálisis, que se basa en la compilación y análisis crítico de diferentes estudios experimentales y observacionales que comparten objetivos similares.

A continuación se revisan las características de los diferentes diseños metodológicos.

#### **Estudios observacionales**

##### ***Estudios de cohorte***

El nombre de cohorte viene del latín *cohors*, término que utilizaban los romanos para designar a una unidad militar de infantería; en investigación este término se usa para describir a un grupo de sujetos que comparten una misma característica (por ejemplo, ser estudiantes, tener antecedentes familiares de cáncer, ser inmigrantes, etc.). Para iniciar el estudio, los investigadores identifican

a uno o más grupos de sujetos que conformarán la(s) cohorte(s); posteriormente, procederán a seguirlos durante un tiempo, que puede ser de días, meses o años, hasta la ocurrencia del evento (por ejemplo, la enfermedad) motivo de interés o estudio. En los estudios observacionales, los de cohorte constituyen el grupo más sólido o con mayor validez, porque si se realiza adecuadamente, los resultados obtenidos serán los de mayor confiabilidad; es decir, con el menor número de errores o sesgos. Éste es uno de los mejores diseños para tratar de establecer la causa u origen de una enfermedad a partir de la exposición a uno o más factores de riesgo. Por ejemplo, un investigador desea comprobar que la radiación (exposición al factor) puede producir algún tipo de enfermedad; para realizarlo primero identifica a dos grupos de sujetos: unos que trabajan en una planta nuclear y un grupo de sujetos que viven en la misma ciudad, pero que trabajan en oficinas de gobierno. Para incluirlos en el estudio, los sujetos de cada grupo no deben padecer la enfermedad en el momento que se realiza la entrevista inicial. Posteriormente y cada seis meses acude a los domicilios de los sujetos de ambos grupos y, a través de una encuesta, averigua si en el tiempo transcurrido han acudido al médico y si les han confirmado que padecen alguna enfermedad. Este seguimiento (que también se denomina vigilancia) se termina cuando un sujeto manifiesta la enfermedad de interés (por ejemplo, cáncer) porque ya ocurrió el evento, el desenlace o la variable dependiente que se buscaba. También puede terminar cuando un sujeto fallece (por causa diferente al cáncer), cambia de domicilio y no se puede localizar, o bien, simplemente porque ya no quiere participar en el estudio; a esta situación habitualmente se le conoce como *pérdida*. Por último, el seguimiento puede terminarse cuando los investigadores deciden dar por concluido el estudio, ya sea porque así estaba programado (por ejemplo, se planeó vigilarlos por un periodo de cinco años) o porque ya no

hay recursos o posibilidades de continuarlo. En la última fase del estudio, los investigadores deben realizar un análisis estadístico para determinar si efectivamente la exposición a radiaciones puede causar cáncer; si la hipótesis es correcta, entonces, al comparar las proporciones de sujetos que padecieron cáncer, la mayor proporción estará en el grupo de trabajadores de la planta nuclear.

Los estudios de cohorte pueden ser *descriptivos* o *analíticos*. Si el objetivo es conocer la incidencia de una enfermedad es un estudio descriptivo en un solo grupo de individuos. Los estudios de cohorte *analíticos* incluyen dos o más cohortes. El ejemplo previo del riesgo de padecer cáncer entre individuos expuestos a radiación es la forma más común de los estudios de cohorte analíticos: existe una cohorte de sujetos expuestos y otra de no expuestos al factor de riesgo o a la posible causa; ambos grupos se siguen de manera prospectiva durante un tiempo determinado hasta que ocurre el desenlace. Debido a que los estudios de cohorte inician con la exposición de individuos a los factores de riesgo hasta el desenlace, es común que se describan como estudios que van de la causa al efecto.

#### *Validez interna*

Un estudio confiable es el que se realiza cumpliendo los lineamientos para evitar sesgos. Los estudios de cohorte tienen tres elementos principales que determinan su validez interna: la selección de los sujetos, el seguimiento y la evaluación del resultado (la ocurrencia del desenlace).

Para evitar sesgos en la selección, al inicio del estudio los sujetos expuestos y los no expuestos al o los factores de riesgo no deben tener el desenlace estudiado. Si la población de donde se obtendrán los sujetos es muy grande, la inclusión al estudio debe realizarse mediante una selección aleatoria. Esto significa que todos

los sujetos tendrán la misma posibilidad de ser escogidos. En lo que respecta al seguimiento, un estudio bien realizado es aquél en el que todos los sujetos incluidos en el estudio se mantuvieron en vigilancia durante todo el tiempo planeado en el protocolo. Para estudios muy largos, el investigador debe anticiparse a las posibles pérdidas y tener un plan para rescatar a los sujetos. Si en un estudio las pérdidas superan 20%, los resultados serán poco confiables. Por último, y no menos importante, es la forma de evaluar el desenlace. En los mejores estudios los investigadores planean que el desenlace lo evalúe una persona que desconozca si el sujeto pertenece al grupo expuesto o no expuesto (*cegamiento*). No es infrecuente encontrar que un investigador que participó en la planeación de un estudio identifique con mayor frecuencia la enfermedad entre los sujetos expuestos sin que esto sea real e inconscientemente registrará datos que favorecen esa relación causal; es decir, identificará más sujetos con la enfermedad en la cohorte expuesta y menos en la cohorte no expuesta.

#### *Ventajas*

Los estudios de cohorte son los mejores para registrar la incidencia de las enfermedades y las causas potenciales de la ocurrencia de una condición. Esto último debido a que los factores de riesgo potenciales se miden antes que suceda el resultado. Los estudios de cohorte, particularmente los prospectivos, le dan al investigador la oportunidad de medir las variables de manera completa, precisa y confiable. Todo esto redundará en un estudio con pocos sesgos. Los estudios de cohorte retrospectivos tienen las mismas ventajas; sin embargo, como el evento ya ocurrió, el estudio tendrá una duración mucho menor, por lo que significará un ahorro en todos los aspectos, particularmente el económico, porque no se requerirá hacer la vigilancia de los sujetos seleccionados.

#### *Desventajas*

Los estudios de cohorte prospectivos, en general, son costosos, porque se requiere un tiempo suficiente para que sucedan los eventos; si los eventos o desenlaces son raros y se requiere seguir a los sujetos por periodos muy largos, entonces será necesario hacer grandes inversiones, de tiempo y dinero, para obtener los resultados esperados. Por el contrario, un estudio de cohorte retrospectivo no tiene esta desventaja porque el evento ya ocurrió; sin embargo, la evaluación de la exposición a los factores de riesgo será menos confiable que la de los estudios prospectivos y dependerá de los datos colectados y el registro del desenlace.

#### *Estudios de casos y controles*

Éste es uno de los diseños que más se utiliza en la investigación clínica y epidemiológica, y tiene como objetivo principal establecer la causa de una enfermedad o un evento.

El estudio de casos y controles pertenece al grupo de estudios observacionales, porque no hay manipulación de las variables. Para realizarlo, en un principio se identifican dos grupos de sujetos: el grupo de casos y el grupo de controles. El primer grupo está constituido por sujetos que ya tienen la enfermedad o la condición que se estudia, mientras que el grupo de controles lo integran sujetos que en el momento de la evaluación no la tienen. Los factores de riesgo que se piensa son los causantes de la enfermedad están planteados en el protocolo y si la hipótesis de los investigadores es correcta, entonces, al terminar el estudio, se establecerá que, en comparación con el grupo de controles, el de casos tuvo con mayor frecuencia el o los factores de riesgo que los investigadores pensaron eran causantes de la enfermedad.

En comparación con el estudio de cohortes, el protocolo de investigación de los estudios de

casos y controles parte de la identificación del desenlace, en este caso la enfermedad, y posteriormente se busca la causa, que son los factores de riesgo o exposición. De ahí que este tipo de diseño de investigación también se describa como estudios que van del *efecto a la causa*.

En cuanto a la confiabilidad de los resultados para determinar la causa de una enfermedad, estos estudios se consideran en un nivel inferior a los de cohorte.

#### *Validez interna*

Para determinar la validez de los estudios de casos y controles deben evaluarse las fuentes potenciales de sesgos; en este caso las principales son la selección de los sujetos y la manera de evaluar si los factores de riesgo existen o no en los dos grupos.

La selección de los sujetos es muy importante; debe establecerse que los dos grupos estén compuestos por individuos que tengan características similares para que se asignen al grupo que realmente les corresponde, es decir, al grupo de casos y al de controles. Para lograrlo, los investigadores deben asegurarse que los sujetos tengan o no la enfermedad; en este sentido, no es suficiente que un sujeto afirme estar sano o enfermo. Como parte del protocolo del estudio debe haber una manera estandarizada para hacer una evaluación completa de todos los sujetos incluidos, realizando los estudios médicos conducentes para descartar o comprobar la existencia de una enfermedad.

En cuanto a la manera para determinar la existencia de los factores de riesgo, y a fin de evitar sesgos, es necesario que los investigadores tomen en cuenta que quienes harán la entrevista a los sujetos incluidos estén cegados a las hipótesis que se plantearon en el protocolo. Al igual que en los estudios de cohorte, si quien hace la

entrevista conoce que cierto factor predispone a la enfermedad, entonces existe la posibilidad que de manera inconsciente pregunte con mayor intención a los casos que a los controles. Asimismo, es posible que los casos estén más propensos a recordar mejor ciertos aspectos relacionados con su vida que los controles, debido a que es muy común que los sujetos enfermos continuamente analicen y busquen la o las causas de la enfermedad.

#### *Ventajas*

Este tipo de estudios, en contraste con los de cohorte, son poco costosos y más factibles de realizar. Lo anterior se debe a que el desenlace estudiado ya ocurrió y no es necesario mantener la vigilancia de los pacientes. En este sentido, la evaluación solamente se realiza en una sola ocasión y por tanto, los resultados se obtendrán en un tiempo mucho menor.

#### *Desventajas*

El mayor problema de estos estudios es que la información que se obtenga de los factores de riesgo depende, en buena medida, de lo que los sujetos incluidos en el estudio recuerden adecuadamente de sus antecedentes familiares y personales. Los casos aportarán mayor información, por lo que es fácil comprender que no es posible estimar el grado de exposición al o los factores de riesgo con la misma precisión que en un estudio prospectivo de cohortes.

#### ***Estudios transversales***

Los estudios transversales se incluyen en la clasificación de los estudios observacionales porque no hay manipulación de las variables. El objetivo principal para el que es útil este tipo de investigación es conocer la *prevalencia* de una condición o enfermedad, lo que significa determinar la frecuencia de esa condición en un

grupo de sujetos y en un momento determinado. El otro objetivo es establecer la causa; sin embargo, en comparación con los estudios de cohortes y de casos y controles, es el diseño más débil para lograrlo, de ahí que sea mejor considerarlos estudios que sirven para hacer una exploración acerca de posible(s) factor(es) de riesgo que se piensa están asociados con la ocurrencia de una condición determinada en un grupo de sujetos.

En cuanto a su estructura, es similar a la de los estudios de casos y controles, pero con ciertas diferencias: sólo se requiere un grupo de estudio y cuando se trata de un estudio de causalidad, la evaluación de la exposición y del desenlace se realiza en un solo momento, sin que requiera hacer una clasificación previa de los dos grupos.

#### *Validez interna*

Los elementos principales para determinar que un estudio transversal se realizó adecuadamente son la selección de la muestra y la manera de recolectar la información. La selección de la muestra se refiere al hecho de elegir a los sujetos que conformarán el grupo de estudio, a partir de una población determinada; en la mayor parte de las investigaciones no es posible estudiar a todos los sujetos que integran a una población por diferentes motivos, por ejemplo, la población es muy grande, falta de recursos económicos o por personal insuficiente. En general, cuando se realiza una selección aleatoria para la inclusión de sujetos al estudio se considera que hubo una buena selección de la muestra de estudio.

Con respecto a la manera de la recolección de la información, para que un estudio sea confiable los investigadores deben realizarla de manera sistematizada; es decir, seguir un protocolo de investigación. Debe planearse su realización en formatos o instrumentos de recolección de datos diseñados específicamente para el estudio, o bien, utilizar instrumentos ya validados en otros

estudios. Por último, y no menos importante, es que la encuesta debe hacerse con personal previamente capacitado.

#### *Ventajas y desventajas*

En términos generales, las ventajas y desventajas de los estudios transversales son las mismas que las de los estudios de casos y controles, pero los resultados son menos confiables. Cuando se obtienen resultados que sugieren que un factor puede producir alguna enfermedad, no es posible asegurar que esta asociación sea real, porque en un momento dado se desconoce si la exposición al factor se produjo antes de que ocurriera el efecto, en este caso la enfermedad.

Sin embargo, se considera el mejor diseño para establecer la prevalencia de enfermedades en la población estudiada. Asimismo, debido a que son fáciles de ejecutar, a partir de los resultados obtenidos puede planearse la realización de otros estudios más sólidos que conlleven a establecer mejor la causa.

#### *Series de casos*

El diseño de estudio más débil, desde el punto de vista metodológico, son las series de casos. En general, pueden considerarse estudios observacionales, aunque lo que se registre es la "evaluación" de una intervención.

En este tipo de diseño, los investigadores se limitan a describir la evolución de un grupo de sujetos (generalmente pacientes) después de vigilarlos durante algún tiempo. Lo común es que el número de sujetos que se describen en el estudio sea de algunos cuantos (menor de 10).

La validez de este tipo de estudio es prácticamente nula porque no hay un protocolo de investigación de por medio y la información que se reporta se basa en registros tomados



a partir de otras fuentes y no de formatos elaborados exclusivamente para el estudio, donde el investigador en muchas ocasiones no intervino. De ahí que la calidad de los datos tenga poca validez.

### **Opinión-panel de expertos**

Ante la ausencia de información confiable o cuando es escasa acerca de un tema en particular, puede recurrirse a la opinión de los expertos en el tema.

Esta manera de obtención de información no se basa en un protocolo de investigación o de datos recuperados de manera sistemática, sino en las experiencias del grupo de expertos, quienes expresan y discuten sus puntos de vista acerca del tema en particular. Para lograr una síntesis de la discusión existe un moderador que la coordina y la resume, para después de una o más sesiones llegar a consensos entre el grupo de expertos. El grupo está constituido por especialistas en el tema, que pueden ser médicos, investigadores, enfermeras, etc.

### **Estudios experimentales: ensayos clínicos**

En este grupo de estudios existen varios tipos: ensayos clínicos controlados, ensayos clínicos cruzados, cuasiexperimentos, ensayos clínicos de antes y después.

Este tipo de estudios se incluyen en los diseños experimentales por el hecho de que los investigadores manipulan las variables, en especial la *variable independiente*. Estos estudios son ideales para determinar si la variable independiente o *intervención* es útil para modificar (en la mayor parte de los casos, para aliviar) una condición o enfermedad preexistente en un grupo de sujetos. Existen diferentes tipos de intervenciones, la más común es cuando se trata de la administración de fármacos; sin embargo, también puede ser

una maniobra educativa o una intervención quirúrgica o, bien, una estrategia de prevención, como la vacunación.

En un ensayo clínico los investigadores tienen un grupo de sujetos con características similares, que se dividen en dos o más grupos, y deciden aplicar la intervención evaluada a uno de esos grupos. Después existe un periodo de vigilancia a los grupos con objeto de evaluar en periodos preestablecidos las modificaciones a la condición de estudio, que por lo general es una enfermedad. Si al término del estudio los investigadores observan que en una proporción importante del grupo de estudio (grupo al que se le aplicó la intervención) se modificó favorablemente su enfermedad, en comparación con el grupo control (grupo al que no se le dio la intervención), entonces se considera que ésta fue útil.

### **Validez interna**

Aun cuando existen varios aspectos que deben tomarse en cuenta para evaluar si un ensayo clínico controlado se efectuó sin sesgos, los más importantes son la forma de asignación de la intervención, la manera de hacer el seguimiento y si el estudio fue ciego.

Para que la asignación de la intervención sea adecuada, los investigadores deben haberla realizado de manera aleatoria. Esto significa que todos los sujetos participantes en el estudio tendrán las mismas posibilidades de que se les asigne al grupo de estudio o al grupo control, sin la influencia de factores que determinen la asignación a uno de los grupos, como las características de los sujetos (por ejemplo, los sujetos más graves, con menor escolaridad o con menos ingresos económicos), o bien, por los mismos investigadores, porque cuando se sabe que una intervención puede beneficiar a los sujetos (a pesar de que no esté comprobado), puede optarse

para asignar uno u otro tratamiento de manera arbitraria.

En cuanto al seguimiento, los ensayos clínicos deben cumplir con las mismas características que los estudios de cohortes para tener validez interna. En síntesis, en estos estudios los investigadores deben asegurarse de mantener en vigilancia a todos los pacientes incluidos durante el tiempo programado. En caso de existir pérdidas mayores a 20%, el estudio pierde confiabilidad y será difícil asegurar que la intervención es efectiva o no.

La ceguedad en los ensayos clínicos es un elemento decisivo porque los resultados que se obtengan tendrán mayor validez. Al igual que en otros diseños de investigación que se comentaron, un estudio ciego es cuando los investigadores desconocen alguna parte del protocolo del estudio, en general, las hipótesis de trabajo. Para el caso de los ensayos clínicos controlados, la ceguedad consiste en que las personas responsables de evaluar los desenlaces, que en este caso son los efectos de la intervención, deben desconocer al grupo que corresponden los sujetos. De esta manera, cuando los investigadores están ciegos a quienes se les asignó o no la intervención en estudio efectuarán evaluaciones más cercanas a la realidad, porque existe la posibilidad de que inconscientemente los investigadores registren datos que no son ciertos si conocen que ciertos sujetos están recibiendo los "beneficios" de la intervención. A esta condición se le conoce como un ensayo clínico *ciego simple*; mientras que un ensayo clínico *doble ciego* es cuando, además de los investigadores, los pacientes tampoco conocen el tipo de intervención a la que son sometidos. Para lograrlo, los sujetos del grupo control deberán recibir algún tipo de "tratamiento" que sea comparable con el que se les otorga al grupo de estudio; en general, este tipo de "tratamiento" se conoce como efecto placebo.

### *Ventajas*

El ensayo clínico controlado es el mejor diseño de estudio cuando se evalúa una intervención. Los resultados obtenidos de un estudio de este tipo bien realizado serán muy confiables.

### *Desventajas*

Debido a que se requiere una planeación, la selección cuidadosa de los sujetos en estudio, la evaluación de los efectos de la intervención sin errores, así como el seguimiento completo por tiempos que pueden ser prolongados, los ensayos clínicos controlados se consideran estudios costosos por la inversión económica y por el personal implicado para su ejecución.

Asimismo, en función de que los sujetos tienen un proceso de selección riguroso, es posible que quienes se incluyen en este tipo de estudios no sean similares a los de la población en general (en epidemiología esto se conoce como *población representativa*), de ahí que la aplicación de los resultados en otras poblaciones será poco factible.

### **Revisiones sistemáticas-metanálisis**

En las últimas décadas ha habido gran avance en el desarrollo de este tipo de estudios, incluso se consideran una nueva disciplina, porque los lineamientos para su realización y análisis tienen menos de 20 años y continuamente se busca la manera de mejorarlos. La importancia que tienen estos estudios para las evaluaciones económicas cada vez es mayor y en la actualidad son la principal fuente de información para realizarlas.

En general, el objetivo primario de estos estudios es revisar todas las investigaciones realizadas acerca de un tema en particular, a fin de sintetizar o resumir la información que se ha generado hasta el momento que se realiza el estudio y

así responder a una pregunta de ese tema. Una revisión sistemática es un tipo de investigación, porque sigue una metodología específica, que parte de una hipótesis para desarrollar un protocolo de estudio. Por esta razón, también se conocen como *estudios secundarios* porque el análisis se basa en los resultados de *estudios originales o primarios*, que incluyen ensayos clínicos, estudios de cohortes, etc.

La necesidad de sintetizar la información de un tema en particular se generó porque existen múltiples estudios primarios con los mismos objetivos, pero que con frecuencia llegan a resultados opuestos o no concluyentes. Cuando se conjuntan diferentes estudios y los resultados se combinan y analizan en un solo estudio se puede llegar a mejores conclusiones para determinar el efecto de alguna intervención en particular.

Los términos *revisión sistemática* y *metanálisis* se utilizan indistintamente para describir a las investigaciones que conjuntan diferentes estudios primarios; cuando los resultados pueden combinarse y se realiza un análisis estadístico se prefiere describirlos como metanálisis, mientras que el término *revisión sistemática* se usa cuando los resultados de dos o más estudios primarios no pueden combinarse porque son muy diferentes entre sí, a pesar de compartir los mismos objetivos.

#### *Validez interna*

Como en los estudios primarios, las revisiones sistemáticas requieren realizarse apropiadamente para que los resultados sean confiables. Los elementos más importantes para determinar la validez de estos estudios son la forma de búsqueda de los estudios primarios y la manera de evaluar los estudios primarios seleccionados.

Respecto a la búsqueda de los estudios primarios, los investigadores implicados en la

revisión deben identificar todos los estudios que se han realizado acerca del tema. Para lograrlo es necesario localizar los estudios publicados en diferentes fuentes; en primer lugar hay que explorar las bases de datos de estudios publicados (por ejemplo, Current Contents, Index Medicus, Artemisa, Biblioteca Cochrane). Los estudios publicados son los artículos incluidos en revistas científicas con circulación periódica. También puede consultarse a los expertos en el tema, quienes pueden tener conocimiento de algunas publicaciones que no se localizan en esos índices o bases de datos. Después, los autores pueden optar por localizar estudios no publicados; para este propósito debe contactarse a los autores de estudios originales para que den la información. Esta opción puede no ser necesaria porque consume mucho tiempo y no siempre los autores de los estudios originales proporcionan la información solicitada. En resumen, entre mayor sea el número de opciones para localizar los estudios originales (independientemente del lugar o país de realización y del idioma) que se incluirán en la revisión sistemática, los resultados serán más confiables porque permitirán tener una visión más amplia del estado que guarda la investigación, en un momento dado, acerca del tema en estudio.

En cuanto a la evaluación de los estudios primarios que se incluyeron en la revisión, se requiere la participación de dos o más investigadores, mismos que de manera independiente extraerán los datos contenidos en cada uno de los estudios. En otras palabras, identificarán, seleccionarán, transcribirán y elaborarán una base de datos con la información de los estudios. Si no se incluyen más de dos investigadores en esta fase puede haber problemas relacionados con la interpretación que un solo investigador le dé a la información. Los datos extraídos por los dos investigadores se compararán entre sí, y entre más similares sean, los resultados serán más confiables.

### *Ventajas*

La principal ventaja es que pueden tenerse resultados más rápidos que cuando se elabora una investigación original. No se requiere un equipo de trabajo compuesto por muchos individuos y, por ende, es más barato.

### *Desventajas*

En muchas ocasiones los estudios originales no tienen la calidad necesaria para incluirlos en la revisión sistemática o, bien, no hay información suficiente para tener disponibles los resultados necesarios para la elaboración de una evaluación económica. Por esta razón, será indispensable la realización de un estudio original. Un punto a considerar es que la recopilación de todos los estudios primarios es la parte del protocolo que consume más tiempo, porque depende de la disponibilidad de los artículos en diversas bibliotecas; en este mismo sentido, la falta de un buen número de artículos durante la revisión pone en riesgo la calidad del estudio.

### **BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. Fletcher RH, Fletcher SW. Clinical epidemiology. The essentials. 4<sup>th</sup> ed. Lippincot Williams & Wilkins, 2005.
2. Grimes DA, Schulz KF. Bias and causal associations in observational research. *Lancet* 2002;359:248-252.
3. Hernández B, Velasco-Mondragón H. Encuestas transversales. *Salud Publica Mex* 2000;42:447-455.
4. Hernández-Ávila M, Garrido F, Salazar-Martínez E. Sesgos en estudios epidemiológicos. *Salud Publica Mex* 2000;42:438-446.
5. Hernández-Hernández DM, Garduño-Espinosa J, Hernández-Sierra JF, Fajardo-Gutiérrez A y col. Clasificación en niveles de los diseños de investigación clínico-epidemiológicos. *Rev Inves Clin* 1998;50:79-86.
6. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, NewmanTB. *Designing clinical research*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: LippincottWilliams & Wilkins, 2013.
7. Lazcano-Ponce E, Fernández E, Salazar-Martínez E, Hernández-Ávila M. Estudios de cohorte. Metodología, sesgos y aplicación. *Salud Pública Méx* 2000;42:230-241.
8. Lazcano-Ponce E, Salazar-Martínez E, Gutiérrez-Castrejón P, Angeles-Llerenas A y col. Ensayos clínicos aleatorizados: variantes, métodos de aleatorización, análisis, consideraciones éticas y regulación. *Salud Pública Méx* 2004;46:559-584.
9. Sackett DL, Haynes RB, Tugwell P, Guyatt GH. *Clinical epidemiology: A basic science for clinical medicine*. 2<sup>nd</sup> ed. Lippincot, Williams & Wilkins, 1991.

## Síndrome hemofagocítico asociado con hepatitis

Eunice Sandoval-Ramírez<sup>1</sup>, Ignacio Camacho-Meza<sup>1</sup>, Nery Eduardo-Solís<sup>1</sup>, Oswaldo Plascencia-Tabares<sup>2</sup>, Efraín Navarro-Olivos<sup>3</sup>, Francisco Ignacio Ortiz-Aldana<sup>3</sup>

### Resumen

El síndrome hemofagocítico se distingue por la proliferación y activación de células presentadoras de antígeno en la médula ósea y otros órganos del sistema retículo endotelial, así como de linfocitos T CD8+ que ponen en peligro la vida de los pacientes. Las manifestaciones clínicas predominantes, como fiebre, citopenias, hepatitis, coagulopatía, síntomas neurológicos e insuficiencia orgánica múltiple están relacionadas con inflamación sistémica. Comunicamos el caso de un lactante que inició su padecimiento con ictericia, dolor abdominal, vómito, ataque al estado general, hepatomegalia, esplenomegalia y características bioquímicas sugerentes de inflamación hepatocelular y colestasis progresiva con mala evolución clínica; al cuadro se agregó fiebre persistente, crisis convulsivas, anemia, trombocitopenia, leucopenia, ferritina y triglicéridos elevados, que integraron síndrome hemofagocítico con desenlace fatal a pesar de recibir tratamiento inmunosupresor.

**PALABRAS CLAVE:** síndrome, hemofagocitosis, hepatitis, citocinas, macrófago.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):91-94.

## Hemophagocytic syndrome associated to hepatitis.

Eunice Sandoval-Ramírez<sup>1</sup>, Ignacio Camacho-Meza<sup>1</sup>, Nery Eduardo-Solís<sup>1</sup>, Oswaldo Plascencia-Tabares<sup>2</sup>, Efraín Navarro-Olivos<sup>3</sup>, Francisco Ignacio Ortiz-Aldana<sup>3</sup>

### Abstract

Hemophagocytic syndrome is characterized by increased proliferation and activation of antigen presenting cells (histiocytes) in bone marrow and other organs of the reticuloendothelial system as well as CD8+ T cells that threatens life of patients. The predominant clinical manifestations such as fever, cytopenia, hepatitis, coagulopathy, neurological symptoms and multiple organ failure are related to systemic inflammation. We report the case of an infant who started with jaundice, abdominal pain, vomiting and malaise, at admission, hepatomegaly, splenomegaly and biochemically with features suggestive of hepatocellular inflammation and progressive cholestasis with poor outcome, it was added persistent fever, seizures, anemia, thrombocytopenia, leukopenia, elevated ferritin and hypertriglyceridemia integrating hemophagocytic syndrome with fatal outcome despite immunosuppressive therapy.

**KEYWORDS:** syndrome; hemophagocytosis; hepatitis; cytokine; macrophage

<sup>1</sup> Servicio de Alergia e Inmunología Clínica Pediátrica.

<sup>2</sup> Servicio de Medicina del Enfermo Pediátrico en Estado Crítico.

Hospital de Especialidades Pediátrico de León, Guanajuato, México.

<sup>3</sup> Instituto de Salud Pública del Estado de Guanajuato, Guanajuato, México.

Recibido: 2 de septiembre 2015

Aceptado: 8 de diciembre 2015

### Correspondencia

Dra. Eunice Sandoval Ramírez  
drasandoval83@yahoo.com

### Este artículo debe citarse como

Sandoval-Ramírez E, Camacho-Meza I, Eduardo-Solís N, Plascencia-Tabares O y col. Síndrome hemofagocítico asociado con hepatitis. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):91-94.

## ANTECEDENTES

El síndrome hemofagocítico, sea primario o secundario, se distingue por proliferación y activación de células presentadoras de antígeno y linfocitos T CD8+ en la médula ósea y otros órganos del sistema retículo endotelial que ponen en peligro la vida de los pacientes.<sup>1</sup> Las manifestaciones clínicas predominantes, como fiebre, citopenias, hepatitis, coagulopatía y síntomas neurológicos, están relacionadas con inflamación sistémica.<sup>2</sup>

Entre las causas primarias del síndrome se incluyen la linfohistiocitosis hemofagocítica familiar y el síndrome linfoproliferativo ligado al cromosoma X, mientras que las secundarias incluyen las infecciones, fármacos, procesos malignos y autoinmunitarios (Cuadro 1).<sup>3</sup> El diagnóstico se relaciona con sospecha de sepsis, lo que retrasa el tratamiento. En 2004 la Sociedad del

Histiocito propuso los criterios diagnósticos que permanecen como el patrón de referencia para la identificación del síndrome (Cuadro 2).<sup>4</sup> Evalúan la función citotóxica de las células NK y del receptor alfa soluble para interleucina 2 (IL-2);<sup>5</sup> sin embargo, en etapas tempranas hay ausencia de hemofagocitos y para el diagnóstico se incluyeron algunos marcadores de activación de macrófagos y de células dendríticas como la ferritina.<sup>6</sup>

Comunicamos el caso de un lactante con hepatitis y síndrome hemofagocítico asociado.

## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de un año 11 meses de edad, previamente sano, cuyos familiares negaron antecedentes patológicos. El paciente fue llevado a nuestro hospital por un padecimiento de siete días de evolución con rinorrea hialina, congestión nasal, fiebre no cuantificada, dolor abdominal, ictericia, vómito, coluria, petequias y melena. Ingresó somnoliento, icterico, con equimosis difusas, hepatomegalia y esplenomegalia. Leucocitos 900, hemoglobina 8.7 g/dL, neutrófilos totales 200, plaquetas 1,000; alanino aminotransferasa 415 U/L, aspartato

**Cuadro 1.** Procesos infecciosos asociados con síndrome hemofagocítico

<b>Virus</b>
Virus de Epstein-Barr
Citomegalovirus
Virus herpes simple
Virus varicela zoster
Adenovirus
Parvovirus B19
Virus de hepatitis A, C
<b>Bacterias</b>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Brucella abortus</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Babesia microti</i>
<b>Hongos</b>
<i>Histoplasma capsulatum</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>
<b>Micobacterias</b>
<i>M. tuberculosis</i>
<i>M. leprae</i>
<b>Rickettsias</b>
<i>Coxiella burnetii</i>
<b>Parásitos</b>
<i>Leishmania donovani</i>

**Cuadro 2.** Criterios diagnósticos de linfohistiocitosis hemofagocítica

1. Enfermedad familiar-defecto genético conocido
2. Criterios clínicos y de laboratorio (cinco de ocho criterios)
Fiebre
Esplenomegalia
Citopenia en dos o más líneas celulares
• Hemoglobina <9 mg/dL
• Neutrófilos <1,000 células
Hipertrigliceridemia, hipofibrinogenemia o ambas
• Triglicéridos
• Fibrinógeno
Ferritina ≥ 500 mcg/L
CD 25 soluble ≥ 2,400 U/mL
Actividad disminuida o ausente de células NK
Hemofagocitos en médula ósea, frotis de sangre periférica o linfonodos

aminotransferasa 2,481 U/L, gamma-glutamyl-transpeptidasa 463 U/L, deshidrogenasa láctica 19,428 U/L, fosfatasa alcalina 512 U/L, bilirrubina total 8.2 mg/dL, bilirrubina directa 7.0 mg/dL, tiempo de protrombina 14.6 segundos, tiempo parcial de tromboplastina 40.5 segundos; anticuerpos IgM-HAV neg; AgHBs IgM neg; hepatitis C neg; toxoplasmosis IgM (-) 3 mg/dL, IgG (+) 14.5 UI/mL; CMV IgM (-) 8 mg/dL, IgG (+) 81.2 UI/mL rubéola IgM (-) 10 mg/dL, IgG (-); VEB VCA IgM (-), VCA IgG (+) 77.4 UI/mL, EBNA-1 IgG (+) 501 UI/mL, VEB AgC IgM (-), EA IgG (-); los hemocultivos no mostraron desarrollo a los cinco días. Ante la sospecha de origen autoinmunitario de la enfermedad se aplicaron tres bolos de metilprednisolona; el paciente continuó con melena, fiebre y datos de respuesta inflamatoria sistémica. Ingresó a la unidad de terapia intensiva con diagnóstico de choque séptico de foco pulmonar. Tuvo crisis convulsiva tónico-clónico generalizada con tomografía de cráneo normal. Se administró dosis única de gammaglobulina intravenosa 2 g/kg, el lactante persistió febril con pancitopenia. Los marcadores para síndrome hemofagocítico reportaron ferritina de 18,902.70 ng/mL, triglicéridos de 380 mg/dL y el aspirado de médula ósea no confirmó células hemofagocíticas. Se inició tratamiento con dexametasona a 10 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal/día y ciclosporina 3 mg/kg/día. Persistió febril con datos de dificultad respiratoria, requirió soporte ventilatorio mecánico, tuvo deterioro hemodinámico, coagulación intravascular diseminada, insuficiencia orgánica múltiple y paro cardiorrespiratorio sin respuesta a maniobras avanzadas de reanimación.

## DISCUSIÓN

Se comunica el caso de un lactante con ictericia, dolor abdominal, vómito y ataque al estado general, cuadro sugerente de un proceso inflamatorio hepático, bioquímicamente con características de afectación hepatocelular intensa

con elevación de deshidrogenasa láctica que sugería un carácter inflamatorio parenquimatoso, la elevación de la gamma-glutamyl transpeptidasa y fosfatasa alcalina reflejaban discreta afectación canalicular; el paciente tuvo incremento en la bilirrubina directa que introducía un patrón colestásico; con estas características clínicas y bioquímicas se consideró que cumplía con criterios diagnósticos de hepatitis de origen a determinar con patrón colestásico, se inició el abordaje y se descartaron las causas más frecuentes en nuestro país, como la hepatitis A; se solicitaron perfiles infecciosos de acuerdo con la edad del paciente; sin embargo, por la evolución tórpida y la trombocitopenia asociada que condicionaba sangrado a distintos niveles, al descartar el origen infeccioso se consideró el origen inmunológico de la enfermedad y se decidió tratar como hepatitis autoinmunitaria; debido a la mala evolución consideramos el diagnóstico de síndrome hemofagocítico e iniciamos tratamiento inmunosupresor.

El diagnóstico de síndrome hemofagocítico requiere la existencia de citopenias y hemofagocitosis en la médula ósea, pero su ausencia no descarta el diagnóstico.<sup>7</sup> La trombocitopenia seguida de leucopenia es el hallazgo inicial más frecuente de síndrome hemofagocítico asociado con hepatitis;<sup>8</sup> algunas explicaciones propuestas son la existencia de inmunocomplejos circulantes y la elevación persistente de citocinas proinflamatorias durante la enfermedad, como IL-1b, factor de necrosis tumoral alfa, IL-6, IL-8, receptor de IL-2, que promueven la activación de macrófagos.<sup>9</sup>

Los pacientes con síndrome hemofagocítico cursan con esplenomegalia, incluso ésta se considera un criterio diagnóstico; en el curso de la enfermedad hay alteraciones en las pruebas de función hepática debido al daño celular secundario a la activación de macrófagos y hemofagocitosis por el sistema retículo-endotelial.

En el caso comunicado, el paciente manifestó inicialmente su padecimiento con hepatitis aislada, referida como inflamación hepática, traducida como elevación de las enzimas hepáticas, esta inflamación es común en la aparición inicial; sin embargo, la manifestación únicamente hepática es poco frecuente.<sup>10</sup>

En 2004, la Sociedad del Histiocito modificó el tratamiento al incluir la administración de ciclosporina desde el inicio, incluso si las infecciones o citopenias no se han curado.<sup>11</sup>

El síndrome hemofagocítico debe sospecharse en pacientes que cursan con antecedente familiar o infecciones de cualquier causa que muestren mala evolución, con persistencia de fiebre, citopenias, datos de respuesta inflamatoria sistémica, insuficiencia orgánica múltiple sin un foco infeccioso evidente, porque el diagnóstico oportuno contribuye al tratamiento adecuado y mejor pronóstico.

## REFERENCIAS

1. Mashuku S. Differential diagnosis of hemophagocytic syndrome: underlying disorders and selection of the most effective treatment. *Int J Hematol* 1997;66:135-151.
2. Janka GE, Schneider EM. Modern management of children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 2004;124:4-14.
3. Kumakura S, Ishikura H, Kondo M, et al. Autoimmune-associated hemophagocytic syndrome. *Mod Rheumatol* 2004;14:205-215.
4. Henter JL, Horne A, Arico M, Egeler RM, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:124-131.
5. Lin TF, Ferlic-Stark LL, Allen CE, Kozinetz CA, McClain KL. Rate of decline of ferritin in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis as a prognostic variable for mortality. *Pediatric Blood & Cancer* 2011;56:154-155.
6. Canna SW, Behrens EM. Not all hemophagocytes are created equally: appreciating the heterogeneity of the hemophagocytic syndromes. *Curr Opin Rheumatol* 2012;24:113-118.
7. Filipovich AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a lethal disorder of immune regulation. *J Pediatr* 1997;130:337-338.
8. Gundersen SG, Bjoernekleit A, Bruu JN. Severe erythroblastopenia and hemolytic anemia during a hepatitis A infection. *Scand J Infect Dis* 1989;21:225-228.
9. Murohashi I, Yoshida K, Ihara N, et al. Serum levels of Th1/Th2 cytokines, angiogenic growth factors, and other prognostic factors in young adult patients with hemophagocytic syndrome. *Lab Hemat* 2006;12:71-74.
10. Amin N, Shah I, Bhatnagar S. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in children presenting as liver disease. *J Clin Exp Hepatol* 2014;4:175-177.
11. Jordan M, Allen C, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2011;118:4041-4052.



## Trasplante de progenitores hematopoyéticos en un paciente con enfermedad granulomatosa crónica en México

Nideshda Ramírez-Urbe<sup>1</sup>, Claudia Hernández-Martínez<sup>2</sup>, Gerardo López-Hernández<sup>1</sup>, Martín Pérez-García<sup>1</sup>, Emmanuel Ramírez-Sánchez<sup>4</sup>, Sara Elva Espinosa-Padilla<sup>2</sup>, Marco Yamazaki-Nakashimada<sup>3</sup>, Alberto Olaya-Vargas<sup>1</sup>, Lizbeth Blancas-Galicia<sup>2</sup>

### Resumen

La incidencia de la enfermedad granulomatosa crónica en reportes internacionales es de 1:250,000; sin embargo, en México se desconoce. En el Instituto Nacional de Pediatría, a partir de 2009 se implementó un proyecto para facilitar el diagnóstico de esa enfermedad. De esa fecha al día de hoy se han estudiado 68 casos, de los que 80% son formas ligadas al cromosoma X, además de que cada vez los casos se han diagnosticado a una edad más temprana. En la actualidad nos encontramos con un nuevo reto: el tratamiento curativo de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Comunicamos el caso de un paciente con enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X, trasplantado exitosamente al mes de vida en México.

**PALABRAS CLAVE:** trasplante, progenitores hematopoyéticos, enfermedad granulomatosa crónica.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):95-103.

## Hematopoietic progenitors transplantation in a patient with chronic granulomatous disease in Mexico.

Nideshda Ramírez-Urbe<sup>1</sup>, Claudia Hernández-Martínez<sup>2</sup>, Gerardo López-Hernández<sup>1</sup>, Martín Pérez-García<sup>1</sup>, Emmanuel Ramírez-Sánchez<sup>4</sup>, Sara Elva Espinosa-Padilla<sup>2</sup>, Marco Yamazaki-Nakashimada<sup>3</sup>, Alberto Olaya-Vargas<sup>1</sup>, Lizbeth Blancas-Galicia<sup>2</sup>

### Abstract

The incidence of chronic granulomatous disease in international reports is 1:250,000; however, in Mexico it is unknown. At the National Institute of Pediatrics of Mexico a project for facilitating the diagnosis of the disease was implemented by us in 2009. From the start of such project up to date 68 cases have been studied; 80% of those are X-linked forms (LX) and moreover, it has become noticeable the diagnosis at a younger age. The new challenge we are facing its to provide a successful treatment to those patients diagnosed with chronic granulomatous disease (CGD). We are reporting the case of a one-month old newborn patient diagnosed with CGD-LX that was successfully transplanted in Mexico.

**KEYWORDS:** transplant; hematopoietic progenitors; chronic granulomatous disease

<sup>1</sup> Unidad de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas.

<sup>2</sup> Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias.

<sup>3</sup> Servicio de Inmunología.

Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, Ciudad de México.

<sup>4</sup> Inmunología, Hospital General Playa del Carmen, Secretaría de Salud, Playa del Carmen, Quintana Roo, México.

Recibido: 3 de septiembre 2015

Aceptado: 14 de diciembre 2015

### Correspondencia

Dra. Lizbeth Blancas Galicia  
blancas.lizbeth@gmail.com

### Este artículo debe citarse como

Ramírez-Urbe N, Hernández-Martínez C, López-Hernández G, Pérez-García M y col. Trasplante de progenitores hematopoyéticos en un paciente con enfermedad granulomatosa crónica en México. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):95-103.

## ANTECEDENTES

La enfermedad granulomatosa crónica es una inmunodeficiencia primaria causada por un defecto en el estallido respiratorio de los fagocitos (neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos), que juega un papel crítico en la muerte de bacterias y hongos. La enzima que cataliza el estallido respiratorio es la NADPH oxidasa, que consiste en un complejo enzimático formado por seis subunidades (gp91phox, p22phox, p47phox, p67phox, p40phox, Rac2). El gen que codifica para la subunidad gp91phox es *CYBB*, se encuentra en el cromosoma X y el resto de los genes *CYBA*, *NCF1*, *NCF2*, *NCF4* y *RAC2* están en los autosomas.<sup>1-3</sup>

Como resultado del defecto de la NAPDP-oxidasa la mayoría de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica sufren infecciones graves y recurrentes, además, carecen de regulación en el proceso inflamatorio; secundariamente padecen granulomas difusos que pueden llegar a causar síntomas como obstrucción en el esófago, el estómago, los uréteres, la vejiga urinaria o trastornos disfuncionales secundarios a fibrosis extensa de los diferentes sistemas. Uno de los primeros signos de la enfermedad en los que reciben la vacuna de BCG es BCGitis.

El diagnóstico de la enfermedad granulomatosa crónica se hace al demostrar ausencia de la producción de radicales libres en los neutrófilos activados, mediante diferentes pruebas, como reducción de nitroazul de tetrazolio, reducción de ferrocitocromo o 1,2,3 dihidrorodamina. El estado de portador en la forma recesiva ligada al cromosoma X puede detectarse a través de 1,2,3 dihidrorodamina.<sup>3,4</sup>

La mayoría de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica son tratados a largo plazo con profilaxis antimicrobiana y antifúngica, con lo que disminuye el riesgo de padecer

infecciones fatales, mas no desaparece. La administración de interferón-gamma recombinante es motivo de controversia. Por tanto, el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es el único tratamiento potencialmente curativo en la actualidad.<sup>5</sup>

Entre los dos patrones de transmisión hereditaria la forma recesiva ligada al cromosoma X es la más frecuente (60-80%) en comparación con la forma autosómica recesiva.<sup>2,3,5</sup>

La incidencia de la enfermedad granulomatosa crónica en reportes internacionales es de 1:250,000; sin embargo, en México se desconoce. En el Instituto Nacional de Pediatría a partir de 2009 se implementó un proyecto para facilitar el diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica y el tipo de herencia, a través de la prueba de 1,2,3 dihidrorodamina.<sup>6</sup>

Debido a que la enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X es fatal y el único tratamiento potencialmente curativo es el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, el Instituto Nacional de Pediatría (centro nacional de referencia de inmunodeficiencias primarias), ya lo realiza en pacientes con esta enfermedad. Comunicamos el caso de un paciente con diagnóstico temprano de enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X en el primer mes de vida y trasplantado exitosamente antes del año de edad.

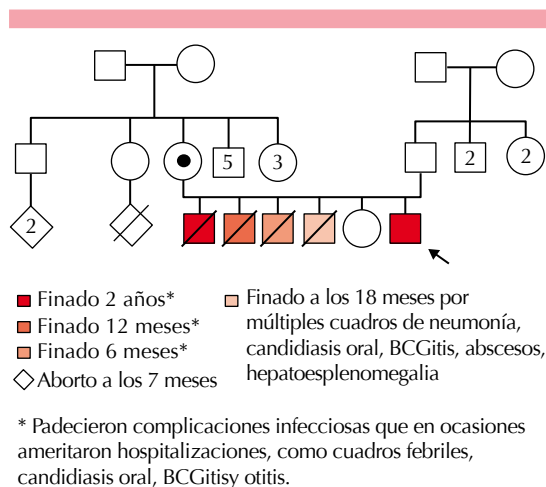
## CASO CLÍNICO

Paciente masculino de un año tres meses de edad al momento del reporte, originario de Oaxaca, México, con antecedente familiar de padres no consanguíneos, producto del quinto embarazo, tres hermanos varones con antecedente de fiebre, candidiasis oral de repetición, BCGitis, otitis, hiporexia y pérdida de peso, todos finados antes de los dos años de edad. El cuarto herma-

no tenía antecedente de BCGosis, neumonía y candidiasis oral (Figura 1).

En el caso que comunicamos hubo varios datos que orientaron el diagnóstico de una inmunodeficiencia primaria, específicamente de enfermedad granulomatosa crónica, como el antecedente de varios varones afectados en la familia, finados por infecciones recurrentes y severas. Realizamos como prueba de tamizaje 1,2,3 dihidrorodamina en el cuarto hermano sintomático y en el entonces recién nacido asintomático.

Los resultados mostraron falta de producción de radicales libres en los dos varones. Por tanto, realizamos la misma prueba en la madre y la hija con el fin de detectar si eran portadoras de enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X; sólo la madre mostró un patrón bimodal compatible con el estado de portador (Figura 2). La hermana mostró un patrón normal similar al control.



**Figura 1.** Árbol genealógico que muestra los antecedentes de hermanos varones finados a edades tempranas; todos padecieron infecciones recurrentes. La madre es portadora.

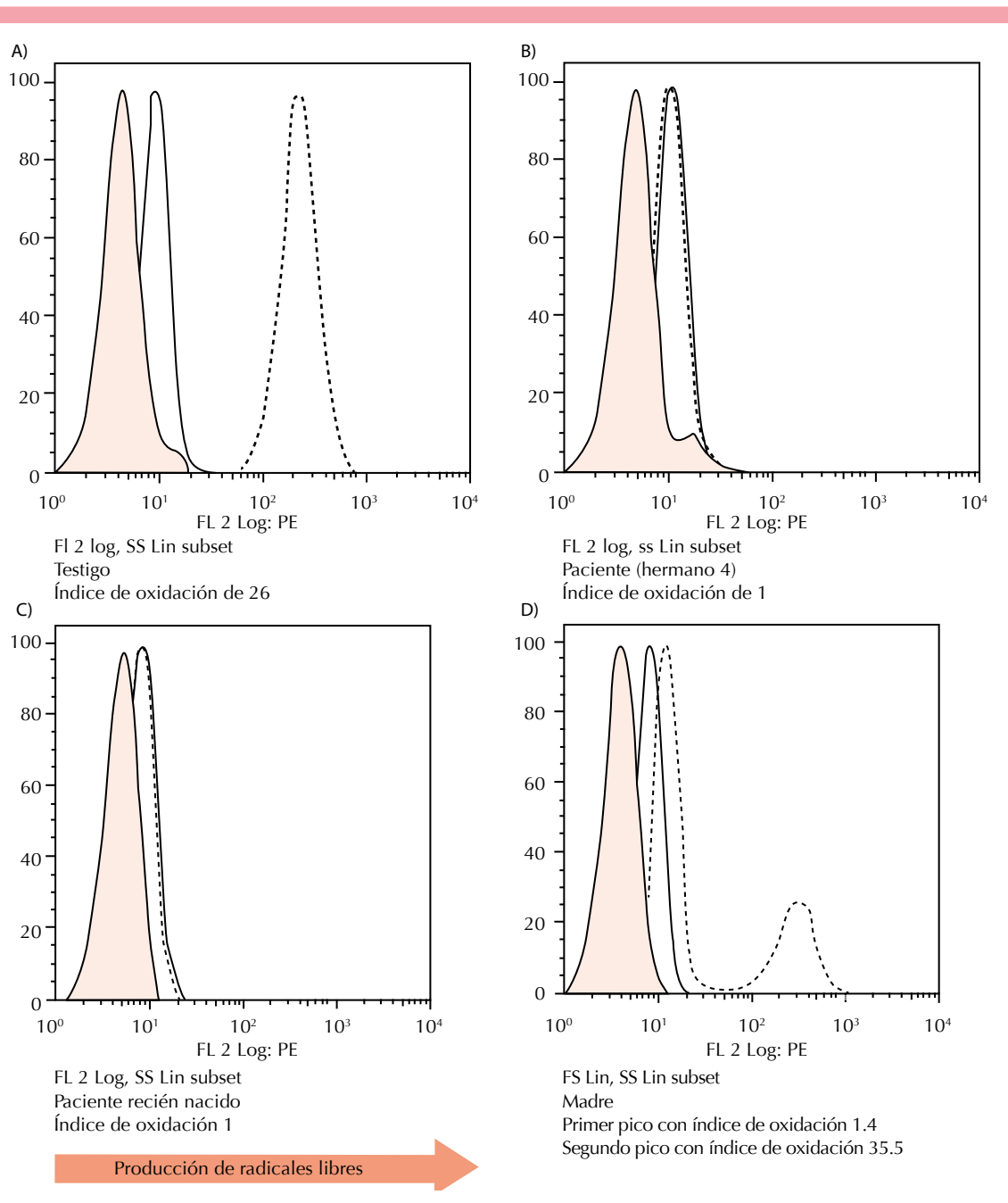
A los nuevos casos con enfermedad granulomatosa crónica se les cuantificó la expresión de gp91phox por citometría de flujo; ambos mostraron nula expresión, lo que se asocia con mal pronóstico.

Un mes después del diagnóstico el cuarto hermano sintomático falleció debido a sepsis con foco pulmonar. En el otro caso se inició inmediatamente profilaxis antimicrobiana, tratamiento con interferón-gamma, no se vacunó con BCG y fue referido al tercer nivel de atención médica.

Posterior a la evaluación médica se decidió realizar trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, tomando en cuenta que se trataba de un caso con un fenotipo severo, de acuerdo con:

1. Patrón de herencia de enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X.
2. Nula expresión de gp91phox por citometría de flujo.
3. Un hermano finado por enfermedad granulomatosa crónica y tres hermanos finados con el mismo cuadro clínico, pero sin diagnóstico.

Se seleccionó a la hermana sana de cinco años de edad como donadora por ser emparentada con HLA 10/10 (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1). Como parte del protocolo se valoraron los diferentes sistemas; en evacuaciones se aisló *Clostridium difficile*, que remitió con metronidazol. A los 10 meses de edad del paciente se realizó el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, que se obtuvieron de médula ósea, se usó un régimen de acondicionamiento mieloablativo con busulfán 16 mg/kg/día, ciclofosfamida 120 mg/kg/día y gammaglobulina antitimocito 4.5 mg/kg/día (día -11). La dosis infundida de células progenitoras hematopoyéticas fue de CD34+ 5.22x10<sup>6</sup> y mononucleares 8.5x10<sup>7</sup> (día 0).

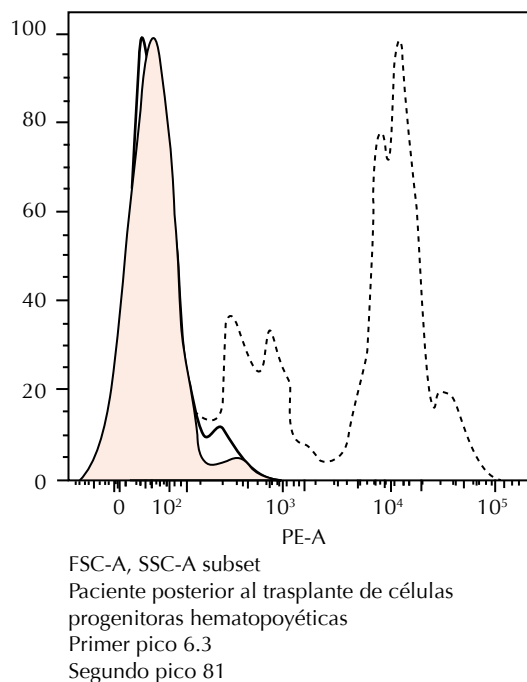


**Figura 2.** Ensayo de 1,2,3 dihidrorodamina. **A.** Producción normal de radicales libres en neutrófilos representada por el histograma punteado desplazado a la derecha sobre el eje de las X. **B y C.** Falta de producción de radicales libres en los dos hermanos con enfermedad granulomatosa crónica; el histograma punteado no tiene un desplazamiento hacia la derecha. **D.** Estado de portadora de la madre; el histograma punteado tiene un patrón bimodal que representa las dos poblaciones de neutrófilos en la madre del paciente, la de la izquierda con producción anormal (índice de oxidación de 1.4) y la de la derecha con producción normal (índice de oxidación de 35).

Al día +13 hubo evidencia de recuperación en la cuenta absoluta de neutrófilos (más de 500 cel/mm<sup>3</sup> durante tres días sostenidos) y quimerismo del 100%. Al día +14 del trasplante se aisló adenovirus en evacuaciones; sin embargo, el paciente se mantuvo asintomático. Al día +33 tuvo enfermedad de injerto contra huésped en piel grado II, que se trató exitosamente con tacrolimus tópico y metilprednisolona a 1 mg/kg/día. En el día +50 postrasplante se documentó infección por citomegalovirus, que se negativizó al día +58; en el día +106 se documentaron adenopatías cervicales derechas, la biopsia por escisión no mostró anomalías y las cargas virales en ese momento para citomegalovirus, virus de Epstein-Barr y adenovirus tuvieron reportes negativos. El último quimerismo del día +92 fue del 100%. Al día +118 en muestra de sangre periférica se evaluó el estallido respiratorio por ensayo de 1,2,3 dihidrorodamina y la expresión de la proteína gp91phox en neutrófilos (citometría de flujo, en comparación con un sujeto sano); observamos que en relación con los estudios previos al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas hubo mejoría en ambos resultados (Figura 3). En la actualidad, el paciente tiene seguimiento en la consulta externa y se ha mantenido en buenas condiciones, sin eventos infecciosos o inflamatorios, continúa con tratamiento antimicrobiano profiláctico, este último se indicó por los efectos de mieloablación del acondicionamiento (Figura 4).

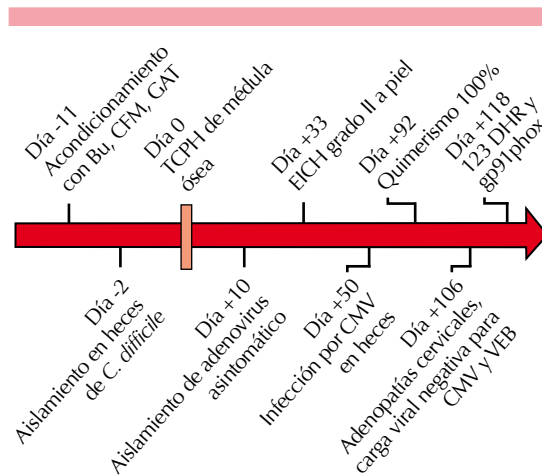
## DISCUSIÓN

No existen reportes epidemiológicos de la enfermedad granulomatosa crónica en México; en 2002 se publicó un registro de las inmunodeficiencias primarias de 30 años del Instituto Nacional de Pediatría, se recabaron 171 casos y de ellos sólo 12 correspondieron a enfermedad granulomatosa crónica. En la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias, de 2009 a 2015 estudiamos 68 casos, documentamos que el primer síntoma de la enfermedad en



**Figura 3.** Ensayo de 1,2,3 dihidrorodamina. Se observa la producción de radicales libres en neutrófilos, representada por el histograma punteado desplazado a la derecha sobre el eje de las X. Observamos que hay un patrón bimodal en el paciente, lo que refleja que tiene dos poblaciones con diferentes índices de oxidación, que corresponden a las células del receptor (izquierda) y a las del donador (derecha).

México puede ser una reacción adversa local a la vacuna de BCG, al igual que en otros países de Latinoamérica.<sup>7</sup> En países en los que no se aplica la vacuna de BCG, en general de primer mundo, no se observan los efectos adversos de la vacuna de BCG como parte de la enfermedad granulomatosa crónica. Ante un evento de BCGitis, BCGosis, otro foco infeccioso o los tres, debe incluirse a la enfermedad granulomatosa crónica como parte del diagnóstico diferencial. En los 68 casos otras manifestaciones frecuentes fueron neumonías, adenitis, sepsis o fiebre sin foco infeccioso aparente.<sup>6</sup>



**Figura 4.** Diferentes eventos alrededor del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH). Bu: busulfán; CMF: ciclofosfamida; GAT: gammaglobulina antitumoral; 1,2,3 DHR: ensayo de dihidrodamina; gp91phox: cuantificación de la expresión de la proteína posterior al trasplante; CMV: citomegalovirus; VEB: virus de Epstein-Barr.

Los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica con herencia recesiva ligada al cromosoma X tienen menor supervivencia y mayor mortalidad. En un estudio europeo de 429 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica se describió, al momento del estudio, un promedio de vida de 49.6 años para pacientes con enfermedad granulomatosa crónica autosómica y de 37.8 años para pacientes con enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X; la supervivencia a 10 años en el primer grupo fue de 94% y de 86% para el segundo. Se ha reportado que tan sólo 50% de los pacientes alcanzan los 30 años, a pesar de llevar apego estricto al tratamiento profiláctico; 30% de los pacientes muere por aspergilosis. El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es una alternativa terapéutica con potencial de curar la enfermedad granulomatosa crónica y de revertir el daño a órganos blanco.<sup>5,8-10</sup>

Existe controversia de cuándo es el momento ideal para realizar el trasplante de células

progenitoras hematopoyéticas en la enfermedad granulomatosa crónica. Los pacientes con ausencia de la actividad de la NADPH-oxidasa tienen mal pronóstico, por lo que se recomienda que en ellos el trasplante se realice en edades tempranas. Los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica recesiva ligada al cromosoma X, en general, tienen actividad nula de la NADPH-oxidasa. Según Gungor y su grupo, las indicaciones generales para realizar el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas son:

1. Una o más infecciones que pongan en riesgo la vida del paciente.
2. Falta de apego al tratamiento profiláctico antimicrobiano.
3. Dependencia de esteroides por enfermedad autoinflamatoria.

El inciso 1 incluye a los pacientes con infecciones activas, como aspergilosis, que no responden al tratamiento y en los que el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es la única alternativa de curación. Asimismo, en pacientes adolescentes y en adultos jóvenes, estos criterios son más difíciles de aplicar debido a que en ellos ya existe daño a diferentes órganos y la mortalidad después del trasplante es alta.<sup>8,11</sup>

Diversos autores demostraron disminución de la morbilidad y mortalidad en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Cole y colaboradores compararon un grupo de 32 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica: casos antes de ser trasplantados y casos no trasplantados contra casos trasplantados; el último grupo tuvo, por mucho, menor número de admisiones hospitalarias por infecciones, colitis, colonoscopia y cirugías, y mejoría en la curva de crecimiento. Cole y su grupo, además, consideran que el éxito del trasplante de manera global se asocia con la óptima selección de un donador relacionado, la administración de fármacos

menos tóxicos durante el acondicionamiento y de antivirales cada vez mejores.<sup>12</sup>

El proceso de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en sí mismo tiene limitaciones, como disponibilidad de donantes, riesgos asociados con el esquema de acondicionamiento y las complicaciones que surjan de la interacción inmunitaria entre el huésped y el donante.<sup>13</sup>

Diversos centros hospitalarios reportaron su experiencia en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. En estos estudios se describen los diversos regímenes usados, inicialmente con un acondicionamiento mieloablativo y en un estudio reciente con esquema de acondicionamiento de intensidad reducida. La dosis de mieloablación óptima para generar espacio en los nichos receptores e inmunosuprimir al huésped, sin tener sus efectos adversos como enfermedad de injerto contra huésped e infecciones fatales, es todo un reto.

Soncini y su grupo describieron los resultados de 20 pacientes trasplantados en el periodo de 1998 a 2007, los pacientes tenían entre 15 meses y 21 años de edad; el trasplante en 10 de ellos fue con donantes compatibles de hermanos, nueve con médula ósea y uno con sangre del cordón umbilical. El resto recibió trasplantes de donador no relacionado con HLA compatible. El seguimiento varió de 4 a 117 meses, 18 pacientes sobrevivieron con una función normal de neutrófilos (90%) y dos murieron a causa de infecciones por hongos.<sup>10</sup>

En Reino Unido e Irlanda se evaluaron 94 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica en el año 2000. Los resultados mostraron una función casi normal de los neutrófilos (90%) después del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Además, este estudio fue el primero que demostró que la calidad de vida es adecuada después del trasplante de células

progenitoras hematopoyéticas; todos los casos tuvieron un efecto positivo en el desarrollo de su capacidad emocional, social y escolar en la vida cotidiana a largo plazo.<sup>14,15</sup>

En la enfermedad granulomatosa crónica se han descrito regímenes de acondicionamiento reducido en pacientes con mayor riesgo, como son pacientes adolescentes o adultos que no pueden tolerar regímenes mieloablativos por infecciones activas (demostradas por microbiología o radiología) o autoinflamación, que no remite al tratamiento, con fiebre de 38°C o proteína C reactiva elevada (o ambas). Este grupo etario tiene mortalidad asociada con el trasplante de 28 a 50%. Estos regímenes de acondicionamiento reducido tienen como objetivo incrementar el injerto mieloide y reducir la toxicidad a órganos.<sup>8</sup> Gungor y su grupo incluyeron a 56 pacientes con los criterios enumerados previamente de 16 centros hospitalarios de 10 países, durante el periodo de 2003 a 2012, la edad promedio de los pacientes fue de 12.7 años; 21 tenían donador relacionado con HLA compatible y 35 donador no relacionado con HLA 9/10 o 10/10; la fuente de las células progenitoras hematopoyéticas fue la médula ósea en 45 pacientes y sangre periférica en 11. El régimen de acondicionamiento incluyó fludarabina y busulfán, en algunos casos se adicionaron dosis bajas de globulina antitumócito. El injerto ocurrió, en promedio, a los 19 días. En una mediana de seguimiento de 21 meses, la supervivencia global fue de 93% (52 de 56), la probabilidad de supervivencia global a dos años fue de 96% y de supervivencia libre de eventos fue de 91%. La incidencia acumulada de enfermedad injerto contra huésped grave (grado III-IV) fue sólo de 4% y la forma crónica representó 7%. El 93% de los pacientes sobrevivió.<sup>8</sup>

No debemos pasar por alto las complicaciones propias de la enfermedad granulomatosa crónica posterior a trasplante, como la colitis inflamatoria y la enfermedad inflamatoria progresiva

del pulmón, ambas como parte de una enzima NADP-oxidasa alterada en la enfermedad granulomatosa crónica y que regula anormalmente el proceso de inflamación.<sup>8</sup>

El estado del injerto en enfermedad granulomatosa crónica puede evaluarse con herramientas como la determinación de quimerismo; sin embargo, otras técnicas útiles son la comparación de la 1,2,3 dihidrorodamina (evalúa el estallido respiratorio) y la expresión positiva de la proteína gp91phox en neutrófilos, monocitos o ambos, antes y después del trasplante. Ambas muestran la existencia de una población celular (receptor 100% o donador 100%) o dos poblaciones celulares (cierto porcentaje del paciente y cierto porcentaje del donador). En la enfermedad granulomatosa crónica se requiere un mínimo de 10% de las células del donador para que el paciente esté libre de manifestaciones clínicas. Otras ventajas de estas herramientas son su simplicidad, rapidez y costo-efectividad.<sup>16,17</sup>

Por último, la terapia génica tendría varias ventajas teóricas sobre el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, incluida la pronta disponibilidad de células madre hematopoyéticas propias del paciente, sin riesgo de enfermedad injerto contra huésped. Sin embargo, la falta sostenida del gen marcado en el compartimiento mieloide en los primeros ensayos resulta en una corrección funcional insignificante de la enfermedad y graves eventos negativos (mielodisplasia y leucemia mieloide aguda) causados por mutagénesis de inserción. En México aún no se cuenta con terapia génica; sin embargo, parece ofrecer una alternativa prometedora en el futuro que incluso podría sustituir al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.<sup>18</sup>

La difusión de las inmunodeficiencias primarias en México ha llevado a su mayor diagnóstico,

incluida la enfermedad granulomatosa crónica (fumeni.org.mx). El reto al que nos enfrentamos ahora es ofrecer un tratamiento curativo a los nuevos casos. Una de las limitantes en México es la falta de suficientes donadores de células progenitoras hematopoyéticas. En nuestro país la Fundación Comparte Vida A.C. tiene entre sus objetivos fomentar la cultura de la donación mediante la realización de campañas diversas de difusión y educación continua para transmitir a la población la importancia de convertirse en un donador potencial altruista al apoyar a los miles de pacientes que requieren un trasplante de médula ósea.

En el caso que comunicamos, la edad temprana al momento del diagnóstico y el tratamiento curativo son factores que reflejan el esfuerzo de un equipo multidisciplinario que ha trabajado en la difusión de las inmunodeficiencias primarias en los médicos de primer contacto. En la actualidad, la Unidad de Investigación en Inmunodeficiencias (UIID) forma parte de una red de diagnóstico a nivel nacional, integrada por diferentes inmunólogos (<http://fumeni.org.mx/encuentra-un-inmunologo/>), que después de una valoración clínica del paciente con infecciones severas y recurrentes, compatibles con enfermedad granulomatosa crónica, nos envían las muestras para realizar pruebas de tamizaje. Los casos diagnosticados se refieren inmediatamente a un grupo de médicos, entre ellos, médicos especialistas en la realización de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

#### Agradecimientos

Lizbeth Blancas Galicia y Sara Espinosa Padilla forman parte del Sistema Nacional de Investigadores. El proyecto fue financiado por CONACYT: SALUD-2012-01-180910 y por la Fundación Mexicana para Niñas y Niños con Inmunodeficiencias.



## REFERENCIAS

1. Roos D, et al. Hematologically important mutations: the autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease (second update). *Blood Cells Mol Dis* 2010;44:291-299.
2. Rosenzweig SD. Inflammatory manifestations in chronic granulomatous disease (CGD). *J Clin Immunol* 2008;28(Suppl 1):S67-72.
3. Winkelstein JA, et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore)* 2000;79:155-169.
4. Berron-Ruiz L, et al. Detection of inheritance pattern in thirty-three Mexican males with chronic granulomatous disease through 123 dihydrorhodamine assay. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2014;42:580-585.
5. van den Berg JM, et al. Chronic granulomatous disease: the European experience. *PLoS One* 2009;4:5234.
6. González A. Características clínicas y moleculares de pacientes mexicanos con enfermedad granulomatosa crónica diagnosticados durante los últimos 10 años. 2015, Facultad de Medicina. División de estudios de posgrado e investigación UNAM, 1-44.
7. de Oliveira-Junior EB, et al. Clinical and genotypic spectrum of chronic granulomatous disease in 71 Latin American patients: First report from the LASID registry. *Pediatr Blood Cancer* 2015.
8. Gungor T, et al. Reduced-intensity conditioning and HLA-matched haemopoietic stem-cell transplantation in patients with chronic granulomatous disease: a prospective multicentre study. *Lancet* 2014;383:436-448.
9. Martínez CA, et al. Excellent survival after sibling or unrelated donor stem cell transplantation for chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:176-183.
10. Soncini E, et al. Unrelated donor and HLA-identical sibling haematopoietic stem cell transplantation cure chronic granulomatous disease with good long-term outcome and growth. *Br J Haematol* 2009;145:73-83.
11. Klauedel-Dreszler MA, et al. Treosulfan-based conditioning regimen in a second matched unrelated peripheral blood stem cell transplantation for a pediatric patient with CGD and invasive aspergillosis, who experienced initial graft failure after RIC. *Int J Hematol* 2009;90:571-575.
12. Cole T, et al. Clinical outcome in children with chronic granulomatous disease managed conservatively or with hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1150-1155.
13. Prasad VK. Stem-cell transplantation for chronic granulomatous disease. *Lancet* 2014;383:390-392.
14. Cole T, et al. Health related quality of life and emotional health in children with chronic granulomatous disease: a comparison of those managed conservatively with those that have undergone haematopoietic stem cell transplant. *J Clin Immunol* 2013;33:8-13.
15. Jones LB, et al. Special article: chronic granulomatous disease in the United Kingdom and Ireland: a comprehensive national patient-based registry. *Clin Exp Immunol* 2008;152:211-218.
16. Kim HY, et al. Rapid determination of chimerism status using dihydrorhodamine assay in a patient with X-linked chronic granulomatous disease following hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Lab Med* 2013;33:288-292.
17. Gonzalez-Ortiz A. Características clínicas y moleculares de pacientes mexicanos con enfermedad granulomatosa crónica diagnosticados durante los últimos 10 años. División de Posgrado e Investigación. México: UNAM, 2015.
18. Notarangelo LD. The long road to optimal management for chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1164-1165.

## Anafilaxia dependiente de cereales inducida por ejercicio

Marta Seoane-Rodríguez, María Elisa Caralli, Cristina Morales-Cabeza, Sarah Micozzi, Manue De Barrio-Fernández, Patricia Rojas Pérez-Ezquerria

### Resumen

La anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo (WDEIA por sus siglas en inglés de *wheat-dependent-exercise-induced-anaphylaxis*) es una entidad cada vez más frecuente. La detección de IgE frente a  $\omega$ -5-gliadina *in vitro* se usa como método diagnóstico, pero la provocación oral controlada simple ciego (POC) con el alimento, junto con la realización de ejercicio físico, es el método diagnóstico patrón de referencia. Se comunica el caso de una paciente de 38 años de edad, con antecedente de episodios de anafilaxia relacionados con la ingestión de alimentos y la realización de actividad física. Se realizó un estudio alergológico. Las pruebas cutáneas fueron positivas a harina de trigo, cebada y centeno. IgE total: 238.0 kU/L, IgE específica positiva (mayor de 100 kU/L) a trigo, cebada, centeno y negativa a rTri-a-19 $\omega$ -5 gliadina. La provocación oral controlada con pan de trigo y ejercicio físico fue positiva. En este caso con anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo sin sensibilización a  $\omega$ -5 gliadina la ausencia de IgE frente a  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\omega$ -gliadina no excluiría el diagnóstico de esta enfermedad.

**PALABRAS CLAVE:** anafilaxia, cereal, ejercicio.

Rev Alerg Méx 2016 Jan-March;63(1):104-107.

## Cereal-dependent exercise-induced anaphylaxis.

Marta Seoane-Rodríguez, María Elisa Caralli, Cristina Morales-Cabeza, Sarah Micozzi, Manue De Barrio-Fernández, Patricia Rojas Pérez-Ezquerria

### Abstract

Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA) is increasing. *In vitro* test such as  $\omega$ -5-gliadin levels are useful in the diagnosis, while oral single blind challenge tests (OCT) with wheat plus exercise continuous being the gold standard diagnostic method. This paper reports the case of a 38-year-old woman, with several episodes of anaphylaxis after eating different foods and doing exercise after ingestion. An allergy study was performed with positive skin prick tests for wheat, barley and rye. Total IgE 238.0KU/L, positive specific IgE (>100KU/L) to wheat, barley and rye, and negative to rTri-a-19  $\omega$ -5 gliadin. OCT with bread and exercise was positive. In this case of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA) with negative serum specific IgE to  $\omega$ -5 gliadin, negative results with  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\omega$ -gliadin doesn't exclude the diagnosis of WDEIA.

**KEYWORDS:** anaphylaxis; cereal; exercise

Servicio de Alergia, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España.

Recibido: 8 de diciembre 2015

Aceptado: 19 de enero 2016

### Correspondencia

Dra. Marta Seoane Rodríguez  
Servicio de Alergología  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón  
Doctor Esquerdo 46  
28007 Madrid, España  
martaseoanerodriguez@gmail.com

### Este artículo debe citarse como

Seoane-Rodríguez M, Caralli ME, Morales-Cabeza C, Micozzi S y col. Anafilaxia dependiente de cereales inducida por ejercicio. Rev Alerg Méx. 2016 ene-mar;63(1):104-107.

## ANTECEDENTES

La anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de alimentos es un síndrome en el que es necesaria la sensibilización a un alimento y la realización de ejercicio físico en las siguientes horas a su consumo para la aparición de la reacción alérgica. La anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de alimentos, y más concretamente la anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo (WDEIA por sus siglas en inglés de *wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis*), son entidades clínicas cada vez más frecuentes que conviene tener en cuenta por parte de los médicos que están en los servicios de urgencias, de manera que puedan ser diagnosticados y tratados correctamente y eficazmente.

La  $\omega$ -5-gliadina es un alérgeno mayoritario del trigo responsable de prácticamente la totalidad de los casos de anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo. La detección de IgE específica en el suero del paciente se usa como método diagnóstico.<sup>1,2</sup> Sin embargo, la provocación oral controlada simple ciego con el alimento asociado con ejercicio físico es el patrón de referencia para el diagnóstico de este padecimiento. Reconocer el alimento responsable no implica prohibirlo, pero sí evitar el ejercicio físico en las siguientes horas a su ingestión.<sup>3</sup> Se han descrito otros cofactores, como la toma de fármacos,<sup>4</sup> que pueden ser importantes en el desencadenamiento del cuadro clínico.

## CASO CLÍNICO

Paciente femenina de 38 años de edad, originaria de Marruecos, sin antecedentes personales ni familiares de atopia, que consultó por padecer en los cinco años previos ocho episodios de eritema y habones pruriginosos generalizados. Los datos clínicos comenzaron al poco tiempo de cambiar su residencia a España.

El primer cuadro clínico consistió en la aparición de eritema y habones generalizados, leve prurito cutáneo, sin angioedema labial, palpebral ni en otra localización, obstrucción nasal, prurito óculo-nasal e hiperemia conjuntival. En la segunda ocasión se intensificó la obstrucción nasal y se asoció prurito intenso en las palmas y tos, sin sibilancias ni disnea. Durante el tercer episodio a los datos clínicos cutáneos (urticaria generalizada) y de rinoconjuntivitis se añadió leve disnea alta, sin disfagia ni disfonía. El siguiente cuadro consistió en lesiones habonosas generalizadas, eritema en el tronco y los miembros superiores, sin afectación facial, prurito palmoplantar, parestesias en las manos, tos sin sibilancias y dolor epigástrico. En las primeras cuatro ocasiones se trató en diferentes servicios de urgencias extrahospitalarias con antihistamínicos y corticoesteroides, con alivio en una hora.

De manera progresiva las reacciones se hicieron más severas, con parestesias y edema labial, sensación de cuerpo extraño faríngeo, disnea severa, tos y sibilancias bilaterales, disfagia, náuseas, vómitos, dolor abdominal y mareo. En el último episodio a todo lo anterior se añadió pérdida de la conciencia de segundos de duración.

Pese a la mayor severidad los últimos cuadros cedieron en una hora tras recibir tratamiento con antihistamínicos y corticoesteroides sistémicos a dosis altas sin llegar a necesitar adrenalina en ninguno de ellos.

Debido al empeoramiento la paciente se envió al servicio de Alergología, en donde se inició estudio y la capacitaron para la administración de adrenalina autoinyectable como tratamiento de anafilaxia.

Los episodios se relacionaron con la ingestión de diversos alimentos (pan, pizza, pasta, frutos secos, mostaza, legumbres, pescado y camarones, frutas, verduras, leche y huevo) y

la realización de actividad física posterior, ya fuera caminar rápido, correr, subir escaleras, incluida la actividad física desarrollada durante la actividad laboral. Casi todos se produjeron en los 45 minutos posteriores a la ingestión. En una ocasión ocurrió inmediatamente después del contacto con la masa de una pizza y en tres ocasiones había tomado ácido-acetilsalicílico e ibuprofeno una hora antes de los cuadros. En todos los casos había comido harinas, leche y huevo previamente al ejercicio físico.

Todos los alimentos implicados los toleró con posterioridad en reposo.

Se realizó un estudio alergológico consistente en pruebas cutáneas y determinación de IgE específica frente a alimentos y provocación oral controlada con los fármacos y alimentos implicados.

Las pruebas cutáneas se realizaron con extractos comerciales (Alk-Abelló®, Madrid, España) de harina de trigo, cebada, centeno,  $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, caseína, huevo, clara, yema, ovoalbúmina, ovomucoide, cacahuete, almendra, soja, avellana, mostaza, nuez, semillas de girasol, tomate, camarón, *Anisakis simplex*, proteínas transportadoras de lípidos (LTP), profilina y látex. Como control positivo se usó histamina y como control negativo, suero salino. Las pruebas cutáneas resultaron positivas a harina de trigo, cebada, centeno y negativas para el resto de alimentos implicados, LTP y profilina (Cuadro 1).

El hemograma y la bioquímica fueron normales. La IgE total fue de 238.0 kU/L. La IgE específica fue positiva (más de 100 kU/L) para trigo, cebada y centeno, y negativa para LTP, profilina, rTri-a-19  $\omega$ -5 gliadina. La triptasa basal fue de 5.01 y 3.67  $\mu$ g/L en dos ocasiones diferentes (Cuadro 1).

Tras la firma del consentimiento informado se realizó provocación oral controlada con ibupro-

**Cuadro 1.** Pruebas cutáneas

Alergeno probado	Prueba por punción comercial	IgE específica
Trigo	+	>100
Cebada	+	>100
Centeno	+	>100
$\alpha$ -lactoalbúmina	-	0.01
$\beta$ -lactoglobulina	-	0.00
Caseína	-	0.02
Huevo	-	0.04
Clara	-	0.02
Yema	-	0.02
Ovoalbúmina	-	0.00
Ovomucoide	-	0.00
Cacahuete	-	0.01
Almendra	-	0.01
Soja	-	0.00
Avellana	-	0.02
Mostaza	-	0.00
Nuez	-	0.06
Semillas de girasol	-	0.00
Tomate	-	0.04
Camarón	-	0.00
<i>Anisakis simplex</i>	-	0.02
Látex	-	0.03
LTP	-	0.01
Profilina	-	0.00

feno y ácido acetilsalicílico hasta alcanzar dosis terapéuticas, que fueron negativas en reposo y tras ejercicio físico, de manera inmediata y tardía. De este modo, la posibilidad de que se tratara de una reacción de hipersensibilidad tardía al fármaco quedó descartada.

Durante la provocación oral controlada con pan y actividad física la paciente padeció eritema y prurito palmar con lesiones habonosas pruriginosas en los brazos, que cedieron por completo a los 30 minutos de la administración de dexclorfeniramina subcutánea, sin precisar más tratamiento.

Las pruebas realizadas con el resto de alimentos y actividad física fueron negativas. Todas las pruebas de exposición controlada se realizaron con más de 48 horas entre ellas.

Tras la prohibición de la ingestión de cereales o alimentos que los contuvieran seguida de la realización de ejercicio físico la paciente no volvió a padecer ningún episodio de anafilaxia.

## DISCUSIÓN

Comunicamos el caso de una paciente con anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo sin sensibilización a  $\omega$ -5 gliadina. Debido a que existen casos de anafilaxia inducida por ejercicio dependiente de trigo con IgE específica frente a gliadina negativa,<sup>5</sup> la anamnesis y la prueba de esfuerzo previo a la ingestión de trigo resultan esenciales para el diagnóstico. La ausencia de IgE específica frente a  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\omega$ -gliadina no excluye el diagnóstico.

La historia natural de este padecimiento no es bien conocida, pero es posible que con el paso del tiempo los pacientes toleren la realización de ejercicio físico tras la ingestión del alimento causal<sup>6</sup> e incluso que las pruebas cutáneas se negativicen. Por ello es importante el seguimiento y la realización de determinaciones complementarias mediante pruebas cutáneas y cuantificación de IgE específica en consultas posteriores.

Es fundamental determinar posibles cofactores para prevenir nuevos episodios, de modo que estos pacientes deben evitar la ingestión de cualquier alimento que contenga harina de cereales en circunstancias en las que posteriormente hagan un esfuerzo físico, caminar o realizar su actividad laboral, en caso de que implique actividad física. Cuando tomen estos alimentos deben permanecer en reposo durante las horas siguientes a la comida, sin que exista un consenso acerca del tiempo exacto que debe transcurrir, que según lo descrito en la bibliografía, varía entre tres y seis horas.<sup>7,8</sup> Es importante instruir a los pacientes en la administración de adrenalina autoinyectable para detener la reacción en caso de que ésta ocurra.

La ausencia de sensibilización a  $\omega$ -gliadina no excluye el diagnóstico de anafilaxia por ejercicio dependiente de trigo.

Asimismo, el conocimiento de esta entidad por parte de los médicos que desarrollan su actividad asistencial en los servicios de urgencias no es frecuente y, por tanto, no se sospecha en un episodio de anafilaxia. Estos pacientes suelen sufrir varios episodios de anafilaxia antes de ser estudiados, al tolerar el alimento causal entre los episodios. Esto complica que los médicos que no estén familiarizados con la enfermedad la consideren posible diagnóstico. Es fundamental que esta situación cambie para que los pacientes que la padecen puedan recibir el tratamiento correcto desde el primer episodio, así como información de las precauciones a tomar hasta que sean diagnosticados por un alergólogo.

## REFERENCIAS

1. Wong GK, Krishna MT. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: Is wheat unique? *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013;13:6.
2. Grosber M, Allertseder V, McIntyre M, et al. Wheat-dependent exercise induced anaphylaxis (WDEIA) and omega-5-gliadin. *Allergol J* 2010;19:5.
3. Mehiri N, Ourari B, Cherif J, et al. Exercise induced anaphylaxis. *Tunisie Medicale* 2008;86:1.
4. Wölbing F, Fischer J, Köberle M, et al. About the role and underlying mechanisms of cofactors in anaphylaxis. *Allergy* 2013;68:9.
5. Morita E, Matsuo H, Chinuki Y, et al. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis. Importance of omega-5 gliadin and hmw-glutenin as causative antigens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergy Intern.* 2009;58:4.
6. Rosenfield LA, Kalicinsky C. Resolution of wheat-dependent exercise induced anaphylaxis-case report. *Allergy, Asthma Clin Immunol* 2010;6.
7. Beaudouin E. Exercise-induced anaphylaxis: Epidemiology and clinical aspects. *Revue Francaise d'Allergologie.* 2010;50:3.
8. Paiva M, Gaspar A, Morais-Almeida M, et al. Exercise-induced anaphylaxis: Frequency in an Immunoallergy Outpatient Clinic. *Rev Portuguesa Imunoalergol* 2009;17:5.

*Revista Alergia México* es el órgano oficial del Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia, A. C. y de la Sociedad Latinoamericana de Alergia, Asma e Inmunología. La revista está abierta a los miembros del Colegio y a la comunidad médica en general, de acuerdo con las siguientes políticas editoriales:

El propósito principal de *Revista Alergia México* es publicar el conocimiento producto de la investigación original en alergia e inmunología clínica y difundir información actualizada y relevante en relación con las tendencias, metodologías y técnicas que se utilizan en la investigación en esos campos del conocimiento. **Mediante el proceso de revisión por pares, el Comité Editorial evalúa aportaciones clínicas originales, casos clínicos, guías clínicas y comunicaciones breves** que contribuyan a la educación continua de los médicos especialistas en alergia, inmunología y disciplinas afines.

Los comentarios editoriales y los artículos de revisión se publican por invitación expresa del Comité, aunque en forma extraordinaria pueden ser aceptados si contienen información original, relevante y actualizada.

### ELEMENTOS GENERALES DE UN ESCRITO

1. **Carátula.** Debe llevar el título del escrito, título corto, nombre de todos los autores, grados académicos, filia-ciones institucionales (nombre de los servicios, departa-mentos e instituciones a los que pertenecen, incluyendo ciudad, estado y país) y datos del autor que recibirá la correspondencia relacionada con el escrito: nombre, dirección postal, teléfono, número de fax y correo elec-trónico (no se aceptarán trabajos sin el correo electrónico del autor responsable). Para identificar a los autores y los departamentos o instituciones a las que pertenecen se deben utilizar números arábigos en superíndice, a seguir de la puntuación.
2. **Resúmenes.** Describirán los aspectos más relevantes. Es responsabilidad de los autores escribir el resumen en inglés y que el texto haya sido revisado por un experto en ese idioma; su contenido debe ser el mismo que el resumen en español.
3. **Palabras clave.** Cuando se requieran, deberá incluirse de tres a cinco descriptores de la Biblioteca Virtual en Salud (<http://decs.bvs.br>), con sus respectivas traducciones en inglés (*keywords*) del lenguaje controlado del Medical Subject Headings (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).
4. **Agradecimientos y declaraciones.**
  - Agradecimientos a todas aquellas personas que contribuyeron a elaborar el artículo, pero cuya contri-bución no fue suficiente para ser considerados como coautores.
  - Fuentes de financiamiento.
  - Posibles conflictos de interés.
5. **Tablas.** Coloque las tablas en hojas por separado y enumé-relas progresivamente con números arábigos. Incluya un título breve para cada una y si fuera necesaria una nota, así como la definición de los símbolos que utilice. Para

el pie de cuadro se debe emplear números arábigos en superíndice. Es necesario que las tablas estén en formato editable de algún procesador de textos (v gr. Word); no se admitirá el manuscrito que no cumpla con este requisito. Las tablas en formatos Excel, data base, SPSS, Acces o similares no serán admitidas.

6. **Figuras.** Deben diseñarse profesionalmente. Las foto-grafías deben presentarse sólo en formato electrónico JPEG o TIFF y con una resolución de alta calidad o su equivalente en 300 dpi. Si se envían fotografías de per-sonas, éstas deberán preservar su anonimato o en caso contrario deberá enviarse una carta de consentimiento para el uso de la fotografía. Mencione en el texto el lugar donde quiera que aparezcan las figuras. Las gráficas están incluidas en esta categoría. Se sugiere el uso de gráficos 2D para la representación de dos variables y 3D para la representación de tres variables.
7. **Pies de figuras.** Las figuras siempre se acompañarán de "leyendas descriptivos", en una hoja por separado, a doble espacio, iniciando cada uno con número ará-bigo. Este apartado debe describir en forma detallada la figura, no sólo decir de qué tipo de imagen se trata (por ejemplo, placa de abdomen o de tórax). Si en la figura aparecen flechas, indicar qué están señalando. En gráficas indicar el significado de cada uno de los colores o patrones de las barras, así como la significancia estadística, si aplica.
8. **Referencias.** Deben enumerarse por orden progresivo de acuerdo como aparecen por primera vez en el texto, tablas y figuras, y estar señaladas en el texto en números arábigos, sin paréntesis, en superíndice y después de la puntuación. Para su correcta estructura es necesario consultar la guía para la preparación de las referencias.

### Artículos originales

Incluyen los siguientes elementos:

1. **Carátula.**
2. **Resúmenes.**
  - En español incluye los siguientes apartados: Introduc-ción, Objetivos, Métodos, Resultados y Conclusión. Su extensión no debe superar las 250 palabras.
  - En inglés incluye los siguientes apartados: *Background, Objectives, Methods, Results y Conclusion*, con un máximo de 250 palabras.
3. **Palabras clave.**
4. **Texto.** Máximo 20 cuartillas.
  - Introducción
  - Objetivos (al final de este apartado, incluir los objeti-vos).
  - Métodos (al final de este apartado deberá incluir en análisis estadístico).
  - Resultados.
  - Discusión (al final de este apartado, incluir las conclu-siones de estudio).

5. Agradecimientos y declaraciones (si se consideran necesarios).
6. *Tablas*, si se requieren. Máximo cinco.
7. *Figuras*, si se requieren. Máximo cinco.
8. *Referencias*.
9. Lista de abreviaturas, si se requiere.

### Informes de casos

Su extensión no debe ser mayor a 1200 palabras y un máximo de tres figuras.

Los informes de casos incluyen los siguientes elementos:

1. *Carátula*.
2. *Resúmenes en español e inglés*.
  - En español incluye los siguientes apartados: Introducción, Informe del caso y Discusión. Máximo 150 palabras.
  - En español incluye los siguientes apartados: *Background*, *Case report* y *Discussion*. Máximo 150 palabras.
3. *Palabras clave*.
4. *Texto*. Máximo de 5 páginas.
  - Introducción.
  - Informe del caso.
  - Discusión.
5. *Referencias*. De seis a 10.

### Imágenes clínicas

En este tipo de documentos se aceptará un máximo de tres autores.

Las imágenes clínicas incluyen los siguientes elementos:

1. *Carátula*.
2. *Fotografías*. Los editores se reservan el derecho de rechazar toda aquella imagen cuyo formato, calidad o resolución no sea adecuado. Máximo cinco.
3. *Pies de las fotografías*. El texto de cada uno no debe exceder de 15 líneas a renglón seguido.
4. *Referencias*. Sólo si se requieren.

### Cartas a los editores

Se aceptan cartas relacionadas con artículos publicados en *Revista Alergia México* en los dos últimos números. Deben iniciar con la frase "A los editores:...".

Se acepta incluir datos propios si estos contribuyen a fortalecer el comentario del artículo en mención.

Las cartas a los editores incluyen los siguientes elementos:

1. *Títulos en español e inglés* relacionados con el artículo comentado.
2. *Texto*. No debe exceder de 500 palabras.
3. *Tabla*. Si se requiere, máximo una.

4. *Figura*. Si se requiere, máximo una.
5. *Referencias*. Máximo cinco, incluyendo la referencia obligatoria del artículo comentado.
6. Nombre completo y filiación del autor, incluyendo dirección de correo electrónico, al final del texto.

Una vez recibidas, los editores las remitirán a los autores de los artículos comentados para que formulen sus argumentos de respuesta. Los comentarios a los artículos y las respuestas se publicarán en el mismo número.

### Comunicaciones breves

Son informes breves de datos preliminares o limitados de investigaciones originales que se encuentran en proceso, o bien, observaciones o series de casos con datos acerca de la fisiopatogenia, diagnóstico, tratamiento o factores pronóstico de enfermedades alérgicas o inmunológicas.

Las comunicaciones breves incluyen los siguientes elementos:

1. *Primera página*.
2. *Resúmenes*. No deberán exceder las 150 palabras, a renglón seguido, sin apartados.
3. *Palabras clave*.
4. *Texto*. Debe tener una extensión no mayor de 1200 palabras.
5. *Referencias*. Máximo 10.
6. *Tabla*. Si se requiere, máximo una.
7. *Figura*. Si se requiere, máximo una.

### Artículos de revisión (por invitación)

Son artículos que investigan, describen y analizan el estado actual del conocimiento de un tema. Pueden ser elaborados por uno o más autores en colaboración. Puede abarcar aspectos de la fisiopatogenia, técnicas novedosas de diagnóstico, tratamientos experimentales, terapias emergentes y nuevas clasificaciones de una entidad nosológica.

Los artículos de revisión incluyen los siguientes elementos:

1. *Carátula*.
2. *Resúmenes*.
  - En español incluye los siguientes apartados: Introducción, Objetivos, Métodos y Conclusión. No debe exceder las 250 palabras.
  - En inglés incluye los siguientes apartados: *Background*, *Objectives*, *Methods* y *Conclusion*. No debe exceder las 250 palabras.
3. *Palabras clave*.
4. *Texto*. Extensión mínima de 5000 palabras y máxima de 7500.
  - Introducción (al final de este apartado, incluir los objetivos).
  - Objetivos, incluirlos al final de la introducción.
  - Métodos (las fuentes empleadas para su búsqueda bibliográfica como bases de datos, palabras clave,

periodos y límites de búsqueda, así como el empleo o no de métodos no convencionales como búsqueda manual, comunicaciones personales, etc.).

- El autor designará otros apartados que considere convenientes para el desarrollo de su tema.
- Conclusión.

5. *Agradecimientos y declaraciones* (si se consideran necesarios).
6. *Referencias*. De 25 a 100.
7. *Tablas*. Si se requieren, no más de seis.
8. *Figuras*. Si se requieren, no más de seis.
9. Lista de abreviaturas (si se requiere).

### Resúmenes comentados (por invitación)

Son resúmenes de artículos destacados y de reciente publicación en las diversas áreas afines a la alergia e inmunología que se considere que aportan información relevante o trascendente.

Los resúmenes comentados incluyen los siguientes elementos:

1. Título completo del artículo en el idioma original, así como su traducción en español.
2. Referencia completa del artículo comentado (consultar la guía para la preparación de las referencias).
3. *Resumen*. No debe ser una copia fiel del resumen publicado en el artículo original. La extensión máxima es de 250 palabras.
  - Objetivo(s): el punto central del estudio o hipótesis en uno o dos enunciados.
  - Diseño: en una sola frase describir el tipo de estudio en cuestión (casos y controles, ensayo clínico controlado doble ciego, serie de casos, meta-análisis, etc.).
  - Sitio: describir genéricamente el lugar donde se realizó el trabajo (por ejemplo: hospital de tercer nivel de atención).
  - Pacientes o materiales: con especial énfasis en los criterios de inclusión, de exclusión y eliminación.
  - Métodos: técnicas y métodos empleados para evaluar a los pacientes.
  - Resultados: con los datos referentes a los pacientes en primer lugar (número de sujetos estudiados, género, distribución por edad y duración del seguimiento). Los resultados principales deben enunciarse en cuatro o cinco enunciados positivos. Los resultados negativos sólo deberán mencionarse cuando sean de relevancia.
  - Limitaciones: destacando los puntos débiles en la metodología de estudio como tamaño de muestra, falta de grupo control, seguimiento breve, falta de evaluación con métodos objetivos, etcétera.
  - Conclusiones: en frases concisas, siempre en relación directa con los objetivos.
4. Comentario. Debe tener una extensión máxima de 250 palabras. Debe incluir la aportación de artículo al conocimiento médico actual, los defectos meto-

dológicos, la similitud o discrepancia con trabajos similares, la necesidad de estudios complementarios y su aplicación en los ámbitos de la alergia y la inmunología. Todo lo anterior incluido y apegado a la siguiente estructura:

- ¿Qué se sabe sobre el tema? El estado del conocimiento del tema de investigación, los aspectos controversiales y el punto central del estudio o hipótesis en breves enunciados.
  - ¿Qué aporta al conocimiento? Los alcances de la investigación, la necesidad y posibilidad de investigaciones futuras.
5. *Referencias*. Máximo cinco.
  6. Nombre completo y filiación del autor, incluyendo dirección de correo electrónico, al pie del comentario.

### GUÍA PARA LA PREPARACIÓN DE LAS REFERENCIAS

Los editores de *Revista Alergia México* se reservan el derecho de rechazar cualquier artículo que no contenga sus referencias correctamente estructuradas o no sean localizables por los lectores, de ahí que no se incluyen las "comunicaciones personales".

#### Artículos de revistas

- La redacción deberá ajustarse a las indicaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).
- Se debe incluir a todos los autores (apellidos seguidos de las iniciales de sus nombres propios en mayúsculas y sin puntos) cuando son tres o menos. Cuando sobrepasen este número se nombrarán los tres primeros, seguidos de *et al.*, tanto en referencias en español como en otros idiomas. Cada autor debe estar separado por comas y el último autor deberá estar separado del título del artículo por un punto y seguido.
- Se respetará el título del trabajo en forma íntegra en el idioma original. No se aceptarán los títulos de las revistas completos; la lista de las abreviaturas correctas de las revistas indizadas está disponible en [ftp://ftp.ncbi.nih.gov/pubmed/J\\_Entrez.txt](ftp://ftp.ncbi.nih.gov/pubmed/J_Entrez.txt)
- El año de publicación se colocará después de la abreviatura de la revista sin puntuación de por medio. Luego del año de publicación se colocará "punto y coma" (;) para separarlo del volumen de la revista.
- No es necesario colocar el número ni el mes de publicación en las revistas que publiquen sus números con paginación continua. El volumen estará seguido de "dos puntos y seguido" (:) para separarlo de la página inicial y final del artículo referido. Ambas páginas estarán separadas por un guión.

Ejemplo:

- Bedolla-Barajas M, Hernández-Colín D. Sensibilización a aeroalergenos en sujetos con rinitis alérgica que viven en la zona metropolitana de Guadalajara, México. *Rev Alergia Mex* 2010;57:50-56.



## Capítulo de un libro

Se debe incluir a todos los autores (apellidos seguidos de las iniciales de los nombres en mayúsculas) cuando son tres o menos. Cuando sobrepasen este número se nombrarán los tres primeros, seguidos de la palabra *et al.*, tanto en referencias en español como en otros idiomas. Cada autor debe estar separado por comas y el último autor deberá estar separado del título del capítulo por un punto y seguido. Se respetará el título del capítulo en forma íntegra en el idioma original y se colocará un “punto y seguido” al final del título. A continuación se colocará la palabra “In” para publicaciones en inglés o “En” para publicaciones en español, seguida de “dos puntos y seguido” (:). Se incluirán los nombres de los editores en el mismo formato indicado para los autores. Luego del último nombre se colocará la palabra “editor(es)” antecedido por una coma (,) y seguido por un punto y seguido (.). Se colocará el título del libro seguido de un “punto y seguido” (.). Luego se escribirá el número de la edición separado por “punto y seguido” de la ciudad de edición. Ésta estará separada por dos puntos y seguido (:). del nombre de la editorial. Se colocará un “punto y coma” (;) seguido del año de publicación, dos puntos y seguido (:). para separar el número de página inicial y final del capítulo separados por un guión (-). El año de publicación se colocará después de la abreviatura de la revista sin puntuación de por medio. Luego del año de publicación se colocará “punto y coma” (;) para separarlo del volumen de la revista. No es necesario colocar el número ni el mes de publicación en las revistas que publiquen sus números con paginación continua. El volumen estará seguido de “dos puntos y seguido” (:). para separarlo de la página inicial y final del artículo referido. Ambas páginas estarán separadas por un guión.

Ejemplo:

- Plaut M, Rotrosen D. Tolerance induced by allergen immunotherapy. In: Lockey RF, Bukantz SC, Bousquet J, editors. Allergens and Allergen Immunotherapy. 3rd ed. New York: Marcel Dekker; 2004:681-682.

Se permite la expresión “en prensa” cuando se trata de un trabajo ya aceptado para publicación por alguna revista y debe especificarse el nombre de la misma.

Todos los demás casos referentes a resúmenes, libros, publicaciones de conferencias, informes técnicos y científicos, artículos periodísticos, páginas en internet o material electrónico, pueden consultarse directamente en [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

## CONSIDERACIONES LEGALES Y ÉTICAS

*Revista Alergia México* sugiere no someter varios artículos de un mismo estudio, ya que esto puede ser considerado como una publicación redundante. Lo más apropiado es que los diferentes resultados se publiquen en un solo artículo. Cada caso que presente esta práctica se evaluará en forma individual.

Los editores de la Revista tienen la capacidad de juzgar y sancionar si el estudio de investigación y posible publicación contiene problemas serios como:

1. Información errónea de manera intencional.
2. El mismo manuscrito ha sido publicado previamente por un autor diferente (plagio).
3. El manuscrito se ha publicado previamente por el mismo autor (publicación duplicada).
4. El manuscrito ha sido enviado a revisión editorial en dos revistas al mismo tiempo (revisión simultánea).
5. Si el manuscrito es publicado en otra revista por el mismo autor, sin el permiso de *Revista Alergia México*.

Todos los manuscritos sometidos a publicación a *Revista Alergia México*, deberán apegarse en sus aspectos éticos a la Declaración de Helsinki, adoptada por la Asamblea Médica de Helsinki en 1964 y revisada por la XXIX Asamblea Mundial Médica en Tokio, Japón, en 1975. Asimismo, deberán informar que el estudio de investigación fue aprobado por un comité de investigación para estudios en humanos o si se trata de un estudio experimental, si fue aprobado por un Comité para estudios de animales de experimentación.

## ENVÍO DE MANUSCRITOS

- Sólo se acepta el envío por vía electrónica de los trabajos, por lo que es responsabilidad de los autores mantener una dirección de correo electrónico vigente y funcional.
- Los trabajos que sean sometidos para su posible publicación deberán remitirse a [revista.alergia@gmail.com](mailto:revista.alergia@gmail.com)
- Se generará acuse de recibo vía correo electrónico al autor y en tiempo oportuno se le comunicará el dictamen del Comité Editorial.

## ACEPTACIÓN DE MANUSCRITOS

- Los trabajos sometidos a revisión por pares en los que se genere una opinión discordante serán remitidos a un tercer revisor.
- En los documentos aceptados para publicación se notificará al autor que responsable de la comunicación, anexando las modificaciones que se consideren pertinentes.
- Los autores tienen un plazo máximo de un mes a partir de la notificación para realizar dichos cambios y enviar nuevamente su trabajo. De lo contrario, su aportación será rechazada.
- *Revista Alergia México* obsequiará al autor principal dos números completos por cada autor. No está considerado el obsequio de sobretiros. La distribución de sobretiros, por instituciones comerciales, sólo podrá hacerse previo consentimiento escrito del autor y del editor.
- Los documentos aceptados para publicación serán propiedad de la Revista, por lo que la reproducción total o parcial requiere la notificación a las autoridades de la misma y el reconocimiento de los créditos respectivos.