

01 Estudios de la explosión respiratoria y el sistema NADPH oxidasa en dos pacientes con sospecha clínica de una inmunodeficiencia en las células fagocíticas

Juan Matute*, Margarita Olivares**, Claudia Rugeles***, Carlos Montoya****, José Franco****, Pablo Patiño*****

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Este trabajo describe el análisis funcional y estructural del sistema NADPH oxidasa de las células fagocíticas en dos pacientes con un Síndrome de Infección Recurrente Anormal (SIRA) que hacía sospechar un posible defecto en las células fagocíticas. La paciente 1, de 19 meses de edad, fue remitida cuando tenía 5 meses por presentar abscesos a repetición desde el primer mes de vida, en uno de los cuales se le aisló *Staphylococcus aureus*. La paciente 2, de 15 años de edad, fue remitida cuando tenía 14 años por presentar un síndrome febril con hemocultivo positivo para *Burkholderia cepacia*. A ambas pacientes se les inició tratamiento profiláctico con Trimetoprim-SMX. La paciente 1 no ha vuelto a presentar abscesos en la piel; ha presentado cuadros gripales, episodios de fiebre, diarrea y vómito, anemia ferropénica y un episodio de sinusitis y bronconeumonía. La paciente 2 ha presentado síndrome gripal leve, cuadros de fiebre, vómito, diarrea y persistentemente sintomatología de rinitis alérgica.

PALABRAS CLAVE

INFECCIÓN RECURRENTE ANORMAL
FAGOCITOS
EXPLOSIÓN RESPIRATORIA
NADPH OXIDASA

METODOLOGÍA

La explosión respiratoria se evaluó por la reducción del NBT en placa de PMN estimulados con PMA, por medio de la reducción de DHR 123 por citometría de flujo en granulocitos estimulados con PMA y por la cinética cuantitativa de reducción del ferrocitocromo C en PMN estimulados con PMA. La expresión de los componentes de la NADPH oxidasa se evaluó por Western blot.

RESULTADOS

En la paciente 1, los ensayos de NBT en placa mostraron que en el 85% de los PMN se formaban gránulos de formazán después del estímulo, aunque en menor concentración por célula que en el control. En dos ensayos iniciales la reducción de DHR 123 por los granulocitos estaba disminuida en el número de células (79% de la paciente versus 98% en el control) y en la cantidad reducida por las

células activas, mientras en una tercera oportunidad la producción de H₂O₂ por los granulocitos de la paciente fue normal (94,3% versus 94,2%). El análisis por Western blot de la expresión de las proteínas p22^{phox} y p47^{phox} del sistema NADPH oxidasa no demostró una disminución con respecto al control.

En la paciente 2, los tres primeros ensayos de reducción del NBT en placa mostraron una explosión respiratoria en promedio del 95% de células y presencia de algunas células con explosión respiratoria disminuida respecto al control; en un ensayo posterior no hubo diferencias entre la paciente y el control normal. Dos ensayos iniciales evaluando la explosión respiratoria por citometría de flujo mostraron que no había diferencias significativas en el número de células de la paciente que reducían la DHR 123 con respecto al control (96.1% de la paciente versus 97.6% en el control) pero la cantidad reducida por las células activas de la paciente era menor; mientras en una tercera oportunidad la producción de H₂O₂ por los granulocitos de la paciente fue normal (99.4% vs 99%). En un análisis inicial de la cinética cuantitativa de reducción del citocromo C, la generación de anión superóxido estaba disminuida (paciente 29.3 nanomoles/min versus control 50.3 nanomoles/min), correspondiente a una reducción del 41.7% en la producción de anión superóxido. En estudios posteriores se encontró una producción normal de superóxido (paciente 156 nanomoles/min vs control 149 nmoles/min). El análisis por Western blot de la expresión de las proteínas gp91phox, p22phox y p47phox del sistema NADPH oxidasa no demostró una disminución con respecto al control.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en estas pacientes sugieren una alteración en la activación del sistema NADPH oxidasa, aunque sin pérdida total de su actividad y una expresión normal de las proteínas evaluadas en cada paciente. Para la paciente 2 se puede pensar en un defecto transitorio de la función del sistema NADPH oxidasa cuya función ya se restableció. Es necesario realizar otros estudios moleculares de las proteínas phox y sus genes, además de explorar otros defectos tales como alteración en la expresión de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa o la disminución de la formación de especies reactivas de oxígeno durante respuestas inflamatorias, con el fin de evidenciar alguna alteración poco severa en la explosión respiratoria de las células fagocíticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. AUSTEN, KF, et al. *Samter's Immunologic Diseases*. 6 ed. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins; 2001.
2. MONTOYA CJ, PATIÑO P. Inmunodeficiencias Primarias. En preparación. Segal BH. Genetic, biochemical and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79:170-200.

.....
Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Corporación Biogénesis, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

* Estudiante de Pregrado, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

** Médica, Grupo Inmunodeficiencias Primarias, Corporación Biogénesis, Universidad de Antioquia

*** Auxiliar de Investigación, Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Corporación Biogénesis, Universidad de Antioquia.

**** Estudiante de Doctorado, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas y Profesor, Facultad de Medicina; Universidad de Antioquia.

***** Director, Corporación Biogénesis; Coordinador, Grupo de Inmunodeficiencias Primarias y Profesor, Facultad de Medicina; Universidad de Antioquia.

ppatino@carios.udea.edu.co

