

## Resúmenes de los trabajos premiados en las XXXVI Jornadas Médico-Quirúrgicas del INER. Septiembre, 2008

### Escala tomográfica (TACAR) de fibrosis/inflamación como marcador pronóstico en la neumonitis por hipersensibilidad secundaria a antígeno aviario\*

MAYRA EDITH MEJÍA ÁVILA,<sup>‡</sup> GUILLERMO CARRILLO RODRÍGUEZ,<sup>‡</sup> ANDREA ESTRADA GARRIDO,<sup>‡</sup> TERESA SUÁREZ LANDA,<sup>‡</sup> DELFINO ALONSO MARTÍNEZ,<sup>‡</sup> MA. DEL CARMEN NAVARRO GONZÁLEZ,<sup>‡</sup> MIGUEL GAXIOLA GAXIOLA,<sup>‡</sup> GUILLERMO GALÍNDEZ,<sup>‡</sup> MOISÉS SELMAN LAMA<sup>‡</sup>

244

**Introducción:** La forma más frecuente de neumonitis por hipersensibilidad en México es la causada por aves. Hasta el momento los parámetros predictores de evolución no están claros, por lo que el objetivo del presente estudio es determinar si una escala alta de inflamación (opacidad en vidrio despulido) y baja de fibrosis en la TACAR podría predecir una evolución clínica favorable.

**Métodos:** Se revisaron en forma retrospectiva los expedientes clínicos y tomográficos de 73

pacientes con AAE. Las anormalidades en la TACAR fueron cuantificadas usando una escala de inflamación y fibrosis modificada descrita por Kazerooni (0-5 puntos), la cohorte fue dividida en dos grupos: grupo I ( $\leq 2$  inflamación/ $\geq 0.5$  fibrosis) y grupo II ( $> 2$  inflamación/ $< 0.5$  fibrosis), esta escala fue correlacionada con las pruebas de función pulmonar, porcentaje de linfocitos en lavado bronquioloalveolar (LBA) y respuesta al esteroide al primer año de seguimiento.

**Resultados:** Como se muestra en la Tabla I, en los pacientes del grupo II se observó un mayor número de linfocitos en el LBA y una mayor mejoría en las pruebas de función pulmonar a través de la capacidad vital forzada (CVF) y saturación de oxígeno ( $\text{SatO}_2$ ) al ejercicio a los 12 meses de seguimiento.

**Conclusiones:** Estos hallazgos mostraron que una proporción elevada de inflamación/baja de fibrosis en la TACAR, es un predictor de mejor respuesta al tratamiento en el primer año de seguimiento.

**Tabla I.** Características clínicas, funcionales, de lavado bronquioloalveolar y tomográficos de los pacientes.

	Grupo I (n = 40)	Grupo II (n = 33)	p
Duración de síntomas (meses)	$38 \pm 48$	$18 \pm 19$	0.03*
$\Delta\text{FVC}$ 12 meses de seguimiento	$1.6 \pm 15\%$	$12 \pm 15\%$	0.038*
$\Delta\text{SpO}_2$ ejercicio 12 meses de seguimiento	$0.79 \pm 5\%$	$8.5 \pm 9\%$	0.006*
Linfocitos en el LBA	$47 \pm 16\%$	$60 \pm 21\%$	0.009*
Escala de inflamación en la TACAR	$1.5 \pm 0.42$	$3.5 \pm 0.66$	0.0001*
Escala de fibrosis en la TACAR	$0.81 \pm 0.52$	$0.18 \pm 0.26$	0.0001*

\* Primer lugar al Premio "Dr. Miguel Jiménez". Cartel en Investigación Clínica.

‡ Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

## Perfil metabólico en el paciente con EPOC según estadio de la enfermedad\*

ELIZABETH ESCOBAR ARRIAGA,<sup>‡</sup> OLIVER PÉREZ BAUTISTA,<sup>‡</sup> ALEJANDRA RAMÍREZ VENEGAS,<sup>‡</sup> JORGE ROJAS,<sup>§</sup> RAÚL H. SANSORES<sup>‡</sup>

**Introducción:** La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) ocupa los primeros lugares de morbimortalidad en nuestro país, repercutiendo en altos costos en el sector salud. Con el advenimiento del concepto de esta enfermedad como un síndrome sistémico y su repercusión en las enfermedades de origen cardiovascular, el reto actual es conocer si el componente sistémico y los marcadores metabólicos y de riesgo cardiovascular pueden ser clínicamente relevantes desde fases iniciales, evaluando su comportamiento según el estadio de la enfermedad. Este conocimiento permitirá instaurar medidas tempranas para abordar a la EPOC de forma sistémica y mejorar el pronóstico.

**Objetivo:** Evaluar el perfil metabólico y los niveles de proteína C-reactiva ultrasensible de los pacientes con EPOC secundario a tabaquismo según el grado de la enfermedad basándose en la estadificación de la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung (GOLD).

**Metodología:** Se incluyeron sujetos que asistieron a la Unidad de Atención al Fumador y al Departamento de EPOC del INER. El diagnóstico de EPOC se basó en historia del tabaquismo, evaluación clínica y los resultados de la espirometría, demostrando obstrucción irreversible y una relación del VEF1/CVF < 0.70. Los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se clasificaron según el estadio de gravedad basándose en la clasificación de la GOLD en GOLD I, GOLD II y GOLD III/IV. Los estadios III y IV se tomaron como un solo grupo para igualar el número de sujetos de cada grupo y así disponer de grupos homogéneos y

comparables. Los parámetros antropométricos y de laboratorio evaluados fueron: talla, peso corporal e índice de masa corporal (IMC), niveles plasmáticos de glucosa, colesterol total (CT), lipoproteína de baja densidad (C-LDL), lipoproteína de alta densidad (C-HDL), triglicéridos (TG) y proteína C-reactiva ultrasensible (PCR-u). La comparación entre estos tres grupos se hizo con ANOVA para las variables con una distribución normal, y la prueba de Kruskall Wallis para las no paramétricas. La comparación entre los grupos específicos se hizo con la prueba de Bonferroni para las variables paramétricas y con la prueba de rangos sumados de Wilcoxon para las no paramétricas. En ambos se estableció una significancia estadística de  $p < 0.016$  a dos colas. El análisis estadístico se realizó en el programa 800-STATA-PC.

**Resultados:** En total fueron incluidos 148 pacientes con diagnóstico de EPOC en el estudio, de éstos 55 (37%) correspondieron a GOLD I, 49 (33%) a GOLD II y a GOLD III y IV 44 (30%) pacientes. En cuanto al género, 65 fueron mujeres y 83 hombres, con un rango de edad de 40 a 85 ( $64.8 \pm 10.7$ ) años. El índice tabáquico (IT) fue de 30 (4-106) paquetes/año. Se encontró una disminución significativa en los niveles de CT, C-LDL, TG, IMC y PCR-u conforme aumentó el grado de EPOC; en tanto que el C-HDL mostró un aumento significativo conforme aumentó el grado de EPOC. El 90% de nuestros pacientes con la clasificación III-IV del GOLD, estaban bajo tratamiento con esteroides inhalados en combinación con  $\beta$ -2-adrenérgicos de larga acción o anticolinérgicos por cuando menos un promedio de dos años.

**Conclusiones:** Nuestros pacientes presentaron una disminución del patrón de lípidos aterogénicos y de niveles de PCR-u, con aumento de C-HDL conforme aumentó la gravedad de la EPOC. Este comportamiento en el perfil de lípidos de manera protectora y disminución de la PCR-u en estados avanzados de la enfermedad, puede estar dado por el uso crónico de medicamentos establecidos para el tratamiento de la EPOC (corticosteroides inhalados y  $\beta$ 2 agonistas).

\* Segundo lugar al Premio "Dr. Miguel Jiménez". Cartel en Investigación Clínica.

‡ Departamento de Investigación en Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica y Programas para Dejar de Fumar, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

§ Servicio de Reumatología, INER.

## La carga de la enfermedad en un grupo de pacientes asmáticos del INER\*

AURORA MARÍA TAPIA DÍAZ,<sup>‡</sup> ANTONIO G. CASAS MEDINA<sup>‡</sup>

**Introducción:** La Organización Mundial de la Salud ha estimado en 15 millones de años, los años de vida ajustados por discapacidad en las pérdidas anuales ocasionadas por el asma, lo que representa el 1% de la carga total global por enfermedad; asimismo, calcula que murieron 255,000 personas por asma en 2005.

**Planteamiento del problema:** Para entender el asma y su manejo desde la perspectiva del sufrimiento individual, los trabajadores de salud y el gasto estatal; es decir, la carga de la enfermedad con una perspectiva integral, deben estudiarse factores económicos, sociales, clínicos-epidemiológicos y sanitarios.

**Hipótesis:** La carga de la enfermedad en el asma se relaciona con el grado de control y sus costos económicos dependen del número de exacerbaciones por año que, además, afectan la calidad de vida y aumentan la carga de enfermedad.

**Objetivo(s):** Estimar la magnitud de la carga de enfermedad generada por el asma en un grupo de pacientes del INER.

**Materiales y método(s):** Se seleccionó una muestra aleatoria simple de los pacientes hospitalizados por asma entre junio de 2006 y junio de 2007, los expedientes clínicos fueron revisados para obtener información clínica, epidemiológica y del proceso de atención; recursos materiales y terapéuticos utilizados, tanto en el servicio de urgencias como durante la hospitalización. Haciendo uso del sistema digital de registro de cuentas corrientes se obtuvieron los datos contables respecto a los costos, tanto los asumidos por el paciente como por la institución.

**Resultados:** En el INER, durante el periodo en estudio, uno de cada 10 pacientes fueron hospitalizados por asma, la mayoría fueron de bajo nivel socioeconómico, mujeres y residentes del DF, el promedio anual de visitas a urgencias fue de 1.98 (DE:  $\pm 1.80$ ), el costo promedio pagado por visita a urgencias fue 90.78 US (DE:  $\pm 59.24$ ) y el costo real promedio fue de 230.79 US (DE:  $\pm 145.10$ ); los días de estancia promedio fueron 9.24 (DE:  $\pm 5.62$  días), y el costo promedio pagado por hospitalización fue de 200.46 US (DE:  $\pm 272.46$ ), la media de días por incapacidad fue de 12 por paciente, los años de vida productiva potencial perdidos fueron 22.4. Los factores asociados con la expresión de asma fueron las exposiciones ambientales: hacinamiento, polución, asbestos e industriales, si se considera a los exfumadores, la exposición a humo de tabaco afecta al total de pacientes. Entre los factores que predisponen las exacerbaciones se encuentran: la obesidad y el sobrepeso 67.6%, rinitis alérgica 41.5% y nasosinupatía 19.5%, pero también se registran infecciones respiratorias, aspergilosis y diabetes y reflujo gastroesofágico. Tuvieron asma persistente el 65.9%, el 12.2% requirió ingresar a la Unidad de Cuidados Intensivos y 14.6% no mostró mejoría con el broncodilatador.

**Conclusiones:** Las crisis asmáticas afectan a la población económicamente activa de más bajos recursos, considerando estas características, es probable que la demanda de atención esté asociada con las condiciones de vida, la incomprendición de la estrategia de control y la falta de recursos para sostener los tratamientos farmacológicos.

El costo promedio pagado por un paciente por una visita a la sala de Urgencias es más del doble, y el costo por hospitalización es cuatro veces mayor del pagado en Brasil.

www.mediographic.com

\* Tercer lugar al Premio "Dr. Miguel Jiménez". Cartel en Investigación Clínica.

‡ Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

## La alta concentración de glucosa afecta la producción de citocinas proinflamatorias durante la infección con *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra\*

YOLANDA GONZÁLEZ,<sup>‡</sup> ELIZABETH HERNÁNDEZ,<sup>‡</sup> TERESA HERRERA,<sup>‡</sup> KAREN BOBADILLA,<sup>‡</sup> SANDRA OROZCO,<sup>‡</sup> EDUARDO SADA,<sup>‡</sup> MARTHA TORRES<sup>‡</sup>

**Introducción:** En México se ha reportado que la tasa de incidencia de tuberculosis (TB) es 6.8 veces mayor en los pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) con respecto a la población no diabética. Se ha demostrado que la respuesta inmune celular y la producción de citocinas proinflamatorias juegan un papel esencial en el control de la infección con *M. tuberculosis* (MTB). En estudios de modelos animales de diabetes se observó que la infección con MTB induce una baja producción de TNF- $\alpha$ , IL-12 e IFN- $\gamma$  con mayor mortalidad. Estos datos sugieren que la disminución de la producción de estas citocinas en el modelo de diabetes se asocia con el incremento de la susceptibilidad a TB. Por otra parte, la correlación de la hiperglucemia con la persistencia de las infecciones en pacientes con DM2, indica su posible asociación con el incremento de la susceptibilidad a TB, por lo que es importante determinar si la producción de estas citocinas se ve afectada por las altas concentraciones de glucosa (hiperglucemia) y determinar el efecto de la glucosa en moléculas que participan en la regulación de la producción de las citocinas proinflamatorias.

**Objetivos:** 1) Evaluar el efecto de la alta concentración de glucosa en la inducción de citocinas proinflamatorias en monocitos de sangre periférica (MN) durante la infección *in vitro* con MTB cepa H37Ra. 2) Determinar el efecto de las altas concentraciones de glucosa en la expresión de CD33 en MN.

**Material y métodos:** 1) Se realizaron cultivos *in vitro* de MN de sujetos sanos aislados por selección positiva con perlas magnéticas acoplados con anticuerpos monoclonales anti-CD14. Los MN se incubaron con, a) medio RPMI 1640 que contenía 11 mM de glucosa, b) medio RPMI con 19 mM de glucosa y c) medio RPMI con 19 mM de manitol (como control de osmolaridad), las células se incubaron durante 24 h y 7 días; posteriormente se infectaron con MTB (H37Ra 1:10) y se cuantificó la producción de IL-12p70, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- $\alpha$  a las 4 h infección en los sobrenadantes de los cultivos utilizando la técnica de Cytometric Bead Array (CBA). 2) Se realizaron cultivos *in vitro* de MN en, a) medio RPMI, b) 15, 20 y 30 mM de glucosa y c) 30 mM de manitol para evaluar la expresión de CD33 por citometría de flujo. Los grupos se compararon con la prueba de Mann-Whitney Rank,  $p \leq 0.05$  se consideró como significativo.

**Resultados:** La preincubación de MN durante 24 h con 30 mM de glucosa disminuye significativamente la producción de IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- $\alpha$  en respuesta a la infección con MTB ( $p \leq 0.05$  glucosa vs. medio). Sin embargo, la incubación de MN durante 7 días con 30 mM de glucosa no disminuye la producción IL-1, IL-8 y TNF- $\alpha$  en respuesta a la infección con MTB. Por otra parte, se observó que las altas concentraciones de glucosa (20 y 30 mM  $p \leq 0.05$  glucosa vs. medio) disminuye significativamente la expresión de CD33, molécula encargada de inhibir la producción espontánea de citocinas en monocitos y macrófagos.

**Conclusiones:** La alta concentración de glucosa en cultivos de MN inhibe la producción de citocinas proinflamatorias en respuesta a MTB en períodos cortos de hiperglucemia. Sin embargo, la incubación prolongada con alta concentración de glucosa disminuye la expresión de CD33 molécula encargada de inhibir la activación de monocitos, favoreciendo así una respuesta inflamatoria inespecífica no inmunoprotectora.

\* Primer lugar al Premio "Ismael Cosío Villegas". Cartel en Investigación Básica.

‡ Departamento de Microbiología, Laboratorio de Inmunobiología de la Tuberculosis. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

## Alteración en la expresión de aquaporinas en fibrosis pulmonar secundario a síndrome de Sjögren\*

ALFONSO RAFAEL SALGADO AGUAYO,<sup>‡</sup> MIGUEL GAXIOLA GAXIOLA,<sup>‡</sup> TERESA SUÁREZ LANDA,<sup>‡</sup> ANDREA ESTRADA GARCÍA,<sup>‡</sup> MAYRA EDITH MEJÍA ÁVILA,<sup>‡</sup> DELFINO ALONSO MARTÍNEZ,<sup>‡</sup> GUILLERMO CARRILLO RODRÍGUEZ,<sup>‡</sup> MANUEL MENÉS FLORES,<sup>‡</sup> JS GONZÁLEZ,<sup>‡</sup> MOISÉS SELMAN LAMA,<sup>‡</sup> MA. DEL CARMEN NAVARRO GONZÁLEZ<sup>‡</sup>

El síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad autoinmune sistémica que afecta principalmente a las glándulas exocrinas, y órganos como pulmón, hígado y riñón. Se caracteriza por infiltración linfocítica en los tejidos, formación de tejido linfoide ectópico, producción de autoanticuerpos contra proteínas nucleares y disfunción del órgano afectado. Los pacientes presentan xerostomía, xeroftalmia, resequedad de piel, bronquiolitis, fibrosis pulmonar y algunos pueden desarrollar linfoma de células B. Las aquaporinas (AQP) son proteínas expresadas en muchos tejidos del organismo y funcionan como canales de agua. AQP5 se localiza de manera selectiva en las membranas apicales de células acinares en glándulas lacrimales, en las glándulas salivales serosas y en las membranas apicales de neumocitos tipo I (Funaki *et ál*, 1998). En pacientes con SS se ha detectado una reducción en la cantidad de AQP5 en la membrana apical de células acinares en las glándulas salivales y lacrimales, y se postula que esta reducción es importante en la disminución de la secreción de lágrimas y saliva en estos pacientes (Tsubota *et ál*, 2001 y Steinfeld *et ál*, 2001). A la fecha, no se han buscado cambios en la expresión de AQP5 o de las otras AQPs expresadas en epitelio pulmonar (AQP1 y AQP4) en pacientes con SS. Es posible que aquellos pacientes con SS que manifiestan afección pulmonar, también presenten modificaciones en la expresión de estas proteínas.

**Objetivo:** Estudiar la expresión de AQP en los pacientes que desarrollan fibrosis pulmonar secundarios a SS.

\* Segundo lugar al Premio "Ismael Cosío Villegas". Cartel en Investigación Básica.

‡ Unidad de Investigación. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

**Material y método:** Se incluyeron 10 pacientes con SS que desarrollaron fibrosis pulmonar. Como control se utilizó RNA obtenido en forma comercial de pulmones normales. De las biopsias pulmonares y salivales obtenidas con fines diagnósticos se cuantificó mRNA de las AQPs 1,4 y 5, por PCR en tiempo real (qPCR). Alternativamente se hizo microdissección por captura con láser para seleccionar células epiteliales, a las cuales se les extrajeron RNA total que fue sometido también a qPCR. Se determinó los cambios cualitativos en la expresión de las AQPs por inmunohistoquímica.

**Resultados:** De 7 biopsias de pulmón de pacientes con SS, 5 presentaron una expresión disminuida de mRNA de AQP1 con respecto a RNA control de pulmón sano, 6 tuvieron una disminución en el mRNA de AQP4 con respecto al control, y todos tuvieron un incremento importante en mRNA de AQP5. En los experimentos de qPCR realizados con RNA obtenido por microdissección de epitelio se observó una tendencia similar, pues hay una disminución significativa en el mRNA correspondiente a AQP1 y AQP4 y un aumento en el de AQP5, con respecto al RNA control. El análisis cualitativo de cortes histológicos de biopsias pulmonares de pacientes con SS indica que la expresión de las proteínas AQP1 y AQP4, no cambia o disminuye un poco respecto al tejido sano. Interesantemente, AQP5 parece estar disminuida en los cortes observados.

**Conclusiones:** Las AQP se encuentran alteradas en el tejido pulmonar de pacientes que desarrollan fibrosis pulmonar secundaria a SS, aunque con estos resultados aún no es posible definir un papel de estas proteínas en el desarrollo de fibrosis pulmonar. Se ha reportado que la expresión de AQP5 puede disminuir de manera independiente a sus niveles de mRNA en respuesta a TNF $\alpha$  en epitelio pulmonar murino (Towne *et ál*, 2001); esta citosina juega un papel en la inmunopatogénesis del SS, y es capaz de modificar la localización de AQP5 en células de las glándulas salivales (Steinfeld *et ál*, 2002). Queda por explorar si TNF $\alpha$  juega un papel muy importante en los cambios de expresión de AQP5 en estos pacientes, y el papel que juega AQP5 en la fisiología del SS.

## Efecto de la $\beta$ -defensina-2 en la infección de los virus sincicial respiratorio y adenovirus\*

MIGUEL ÁNGEL GALVÁN MORALES,<sup>‡</sup> CARLOS CABELLO GUTIÉRREZ,<sup>‡</sup> DORA PATRICIA ROSETE OLVERA,<sup>‡</sup> NF MEJÍA,<sup>‡</sup> MA. EUGENIA MANJARREZ ZAVALA<sup>‡</sup>

**Introducción:** La  $\beta$ -defensina-2 es producida por células epiteliales y participan en la respuesta natural contra agentes infecciosos. En vías aéreas y pulmón se han identificado principalmente en infecciones causadas por hongos y bacterias, pero no se conoce su participación en infecciones virales. Estos péptidos pequeños tienen capacidad citolítica, producen daño a la membrana plasmática y tienen importancia en procesos inflamatorios. El sistema respiratorio es el principal acceso de un extenso espectro de agentes que producen infecciones agudas. Por otra parte, el virus sincicial respiratorio (VRS) y los adenovirus son agentes etiológicos de las infecciones respiratorias agudas en niños, el VRS es la principal causa mundial de bronquiolitis y neumonía. Estos virus provocan inflamación y rompen la fisiología del tracto respiratorio. Aun cuando algunos estudios han descrito el comportamiento del gen y de la proteína en las infecciones por algunos virus, no se conoce mucho de la participación de las  $\beta$ -defensinas en la infección del VSR y adenovirus.

**Hipótesis:** La  $\beta$ -defensina-2 se produce durante la infección de un virus envuelto o desnudo y puede reducir el daño viral.

**Objetivo:** Detectar la producción de la  $\beta$ -defensina-2 en líneas celulares HEp-2 y A549 infectadas con adenovirus o VSR, en una cinética de

infección, observar el comportamiento de gen y la acción que tiene en una infección *in vitro* en una cinética dosis-respuesta.

**Material y método:** Se extrajo el RNA total de las células infectadas con adenovirus o VSR, para llevar acabo ensayos de RT-PCR utilizando oligonucleótidos específicos para  $\beta$ -defensinas-2. Para confirmar la presencia de la proteína, se realizaron ensayos de *Western-blot* con anticuerpos específicos y para valorar si la proteína tiene algún efecto sobre la acción citolítica originada por la replicación de los virus se recurrió a ensayos de placa, utilizando proteína recombinante.

**Resultados:** La presencia de la  $\beta$ -defensinas-2 fue detectada y confirmada en las células infectadas, con los experimentos realizados se pudo observar que la concentración de la proteína aumenta en proporción directa al tiempo de exposición a los virus y que se presenta un aumento gradual en la expresión del gen de la proteína durante la infección. Los ensayos en placa demostraron que a mayor dosis de la proteína recombinante de  $\beta$ -defensinas-2, menos daño celular.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos sugieren que el VSR y los adenovirus activan y disparan la producción de  $\beta$ -defensinas-2 en proporción directa al tiempo de exposición y que la proteína disminuye el daño celular ocasionado por los virus al disminuir la replicación viral. Ésta puede ser la primer respuesta contra las infecciones virales y, en muchos casos, puede ser suficiente para promover una eficiente protección del epitelio. Esto enfatiza la necesidad para realizar más investigaciones en esta área para desarrollar y mejorar estrategias para la prevención y tratamiento de infecciones respiratorias agudas de origen viral.

\* Tercer lugar al Premio "Ismael Cosío Villegas". Cartel en Investigación Básica.

<sup>‡</sup> Departamento de Investigación en Virología. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

## Relación entre la expresión de integrinas $\beta 1$ y el desarrollo de hiperreactividad y fibrosis de las vías aéreas en un modelo de asma alérgica\*

MAYRA DINORAH ÁLVAREZ SANTOS,<sup>‡</sup>

MARIO H. VARGAS BECERRA,<sup>‡</sup> RICARDO LASCURAIN

LEDESMA,<sup>§</sup> ROGELIO HERNÁNDEZ PANDO,<sup>II</sup>

BLANCA BAZÁN PERKINS<sup>‡</sup>

**Introducción:** El asma es un síndrome generado por el desarrollo de inflamación e hiperreactividad (HR) de las vías aéreas (VA), fenómenos que se han asociado con episodios recurrentes de obstrucción al flujo de aire. Una consecuencia de la inflamación es el reordenamiento tisular y la modificación de los componentes de la matriz extracelular (MEC).

**Planteamiento del problema:** La interacción entre las células y la MEC se lleva a cabo principalmente mediante integrinas, una familia de 24 glicoproteínas compuestas por una subunidad  $\alpha$  y una  $\beta$  unidas no covalentemente. Algunas integrinas que contienen la subunidad  $\beta 1$ , como la  $\alpha 1\beta 1$  y  $\alpha 2\beta 1$ , son esenciales para contracción del músculo liso.

**Hipótesis:** Debido a que la contracción excedida del músculo liso es el principal mecanismo que produce HR de las VA, es posible que la magnitud de esta HR se asocie con una alta expresión de integrinas  $\beta 1$  en el músculo liso.

**Objetivo:** Determinar, en un modelo de asma alérgica, la relación entre la expresión de la subunidad  $\beta 1$  de integrina y el desarrollo de HR de las VA.

**Materiales y métodos:** Se sensibilizaron a la ovoalbúmina (OVA) cobayos machos Dunkin Hartley de la cepa HsdPoc:DH. La reactividad a la histamina y los cambios inmunohistopatológicos en las VA se evaluaron en el primer, tercer, noveno y doceavo retos antigenicos. Cada reto se administró a intervalos de diez días, y en cada uno se determinó el índice de broncoobstrucción

(íB) máximo producido por los retos antigenicos mediante pleismografía barométrica. Se incluyó un grupo control de cobayos no sensibilizados a la OVA retados con solución salina fisiológica.

**Resultados:** A partir del primer reto con OVA, los cobayos presentaron eosinofilia en la pared de las VA, broncoobstrucción transitoria (que al menos triplicó el íB basal) e HR de las VA a la histamina. Estas alteraciones mantuvieron la misma magnitud hasta el doceavo reto. La cantidad de colágena y la expresión de la subunidad  $\beta 1$  de integrina en las VA se incrementaron progresivamente hasta alcanzar significancia estadística en el noveno y doceavo retos ( $p < 0.01$ ). La expresión de  $\beta 1$  en las VA se observó en células inflamatorias y estructurales, como el músculo liso, pero también se observó en zonas acelulares de la lámina propia. Las imágenes de microscopia inmunoeléctronica de las zonas acelulares mostraron que la subunidad  $\beta 1$  de integrina está asociada con las colágenas tipo I y tipo II, así como a las subunidades  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  de integrina. La expresión de la subunidad  $\beta 1$  de integrina en las zonas acelulares de la lámina propia correlacionó positivamente con la acumulación de colágena en esta estructura (0.47,  $p < 0.01$ ), y con la magnitud de la HR a la histamina (0.5,  $p < 0.01$ ). El coeficiente de correlación entre la expresión de  $\beta 1$  en el músculo liso y la magnitud de la HR de las VA no fue significativa. No obstante, mediante citometría de flujo se determinó que la expresión de la subunidad  $\beta 1$  de integrina en los miocitos correlacionó positivamente con la expresión de caveolina 1 (0.661,  $p < 0.01$ ), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (0.460,  $p < 0.05$ ) y la interleucina 13 (0.519,  $p < 0.01$ ).

**Conclusiones:** Con estos resultados sugerimos que la expresión de integrinas  $\beta 1$  en el músculo liso podría estar involucrada en la modulación del proceso inflamatorio de las VA. Es probable que las integrinas  $\beta 1$  acelulares tengan un papel importante en la regulación de la reactividad de la VA. Previamente se habían observado integrinas acelulares cortadas proteolíticamente en las células para adaptarlas rápidamente a nuevos ambientes durante el crecimiento tisular, pero en este trabajo se sugiere que esta separación también podría ocurrir durante el reordenamiento tisular generado por la inflamación.

\* Primer lugar al Premio "INER". Investigación en Presentación Oral. Apoyado parcialmente por CONACYT (52356)

# Departamento de Hiperreactividad Bronquial, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

§ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. UNAM.

II Departamento de Patología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

## Epidemiología molecular del VIH en México: Características únicas de la epidemia en el país\*

DANIELA GARRIDO RODRÍGUEZ,<sup>‡</sup> SANTIAGO ÁVILA RíOS,<sup>‡</sup> JOEL VÁZQUEZ PÉREZ,<sup>‡</sup> JAIME ANDRADE VILLANUEVA,<sup>§</sup> LUCERO GONZÁLEZ,<sup>§</sup> INDIANA TORRES ESCOBAR,<sup>||</sup> PATRICIA MÉNDEZ-CARDÓS,<sup>¶</sup> ADAKATIA ARMENTA SOLÍS,<sup>||</sup> CLAUDIA GARCÍA MORALES,<sup>‡</sup> MARICARMEN DELGADO LUCERO,<sup>§§</sup> SAMUEL WONG,<sup>|||</sup> GUADALUPE QUIROZ HUERTA,<sup>|||</sup> GASTÓN CORONEL,<sup>|||</sup> ANGÉLICA ZIMBRÓN,<sup>§§§</sup> CESAR CARRASCO,<sup>|||</sup> SAMUEL NAVARRO,<sup>|||</sup> RAMÓN HERNÁNDEZ JUAN,<sup>‡</sup> VERÓNICA QUIROZ,<sup>‡</sup> EDNA RODRÍGUEZ,<sup>‡</sup> MARIO PRECIADO,<sup>‡</sup> CAROLINA D,<sup>‡</sup> GUSTAVO REYES TERÁN<sup>‡</sup>

**Introducción:** La epidemia de VIH/SIDA se ha diseminado de manera sumamente eficiente en el mundo, convirtiéndose en una de las peores y más devastadoras en la historia de la humanidad. En México, los datos sobre epidemiología molecular del VIH son escasos y en gran medida desconocidos. Aunque existen algunos estudios en pequeñas cohortes, no existe un estudio con representatividad nacional.

**Planteamiento del problema:** Información sobre la diversidad del VIH y la prevalencia de mutaciones de resistencia primaria a fármacos antirretrovirales (ARVs) son necesarias en México para optimizar el régimen en el tratamiento antirretroviral, así como para la investigación de vacunas efectivas para nuestra población. Por este motivo, hemos diseñado, por primera vez en México, un estudio de epidemiología molecular con representatividad nacional que proporcionará información de la epidemia de VIH a nivel molecular, así como sobre la prevalencia de resistencia primaria en el país.

**Hipótesis:** La diversidad genética del VIH en México será semejante a la encontrada en países vecinos como Estados Unidos con un predominio del subtipo B y una baja prevalencia de recombinantes. Esperamos observar una baja prevalencia de mutaciones de resistencia primaria a fármacos ARVs, de manera semejante a otros países en desarrollo donde el uso de fármacos ARVs es relativamente más reciente que en países industrializados.

**Objetivos:** Estudiar la diversidad genética del VIH circulante en México, determinando los

subtipos y formas recombinantes presentes a nivel nacional. Determinar la frecuencia de mutaciones de resistencia primaria a fármacos ARVs en México.

**Material y métodos:** Se reclutaron 639 pacientes VIH+ sin tratamiento antirretroviral previo de 16 estados de la República Mexicana. Para cada paciente se secuenció un fragmento del gen *pol* viral, a partir de RNA de virus libre en plasma, usando el estuche comercial ViroSeq (Celera Diagnostics, Alameda, CA). La subtipificación del VIH-1 se realizó mediante el programa REGA confirmándolo con el programa RIP 3.0. El análisis filogenético se llevó a cabo usando el programa MEGA4 con el método de Neighbor-Joining usando el modelo de dos parámetros de Kimura y validación por 1,000 repeticiones de *bootstrap*. El análisis de resistencia fue realizado con el programa HIVdb de la Base de Resistencia de la Universidad de Stanford.

**Resultados:** Se encontró una prevalencia notoriamente alta de subtipo B con sólo un 0.35% de recombinantes/otros subtipos en México. La alta homogeneidad en las secuencias obtenidas no permitió observar grupos de diferenciación entre los virus circulantes en el país. Un total de 7.3% de los pacientes presentaron alto riesgo de resistencia primaria (puntaje de Stanford mayor de 30) hacia al menos un fármaco de cualquier familia. El riesgo de resistencia primaria hacia inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos fue mayor que para las otras familias de fármacos ARVs. Se observó una tendencia de aumento en la prevalencia de resistencia primaria en personas con infección más reciente.

**Conclusiones:** A pesar de los complejos flujos migratorios de la población, la epidemia de VIH/SIDA en México presenta características únicas, distinguiéndose una alta homogeneidad en los virus circulantes, predominantemente del subtipo B. La presencia de recombinantes y otros subtipos es menor a la observada en otros países de Sudamérica, Canadá y Estados Unidos. La prevalencia de resistencia primaria en México parece ser similar a la observada en otros países en vías de desarrollo distinguiéndose, además, una tendencia de aumento en ella. Intervenciones para mejorar la adherencia e información en pa-

cientes en tratamiento ARV podrían ser útiles para controlar la aparición de resistencia primaria en el país. Asimismo, monitoreos generales de

resistencia en pacientes próximos a iniciar terapia ARV podrían ser útiles para optimizar la efectividad del tratamiento ARV.

- \* Segundo lugar al Premio "INER". Investigación en Presentación Oral.  
‡ Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.  
§ Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, Unidad de VIH/SIDA.  
|| Hospital General de Puebla, Servicio Especializado de Atención a VIH/SIDA.  
¶ Hospital General de Zona No. 53 Los Reyes, Medicina Interna.

- ## Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Medicina.  
\$\$ CAPASITS Anenecuilco, Morelos.  
II II Unidad Médica de Alta Especialidad No. 2 IMSS, Obregón, Sonora.  
¶¶ CENSIDA, Veracruz.  
### Hospital Dr. Luis F. Nachón.  
\$\$\$ Hospital General de Ensenada.  
III III CENSIDA Oaxaca.  
¶¶¶ Hospital General de Tijuana.

### El fenotipo biológico de VIH correlaciona con la carga viral plasmática y el número de células T CD4+ en pacientes en las etapas intermedia y tardía de la enfermedad\*

KLINTSY J. TORRES-HERNÁNDEZ,‡ DANIEL POPOCA VARGAS,‡ KARINA GALARZA,‡ GUSTAVO REYES-TERÁN‡

252

**Introducción:** El mecanismo de entrada de VIH a la célula requiere del contacto viral con un receptor (molécula CD4) y un coreceptor (CCR5 o CXCR4) en la superficie celular. Con base en el tipo de coreceptor utilizado, el VIH se clasifica en R5, X4 y R5X4 o dual. Estudios previos han mostrado que el fenotipo biológico de VIH se asocia con mayor rapidez de la evolución a SIDA. No hay estudios en México que evalúen la frecuencia del fenotipo biológico ni su relación con la etapa de la enfermedad.

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de fenotipos biológicos de VIH en etapas intermedia y tardía de la infección por VIH en pacientes del CIENI del INER y correlacionarla con la carga viral (CV) y las concentraciones de cT CD4+.

**Métodos:** A los pacientes con infección por VIH sin tratamiento antirretroviral, se clasificaron en etapa intermedia ( $> 200$  cT CD4+/ $\mu$ L) y en etapa tardía ( $< 200$  cT CD4+/ $\mu$ L). Las muestras de sangre se emplearon para la determinación

de CV en plasma (Cobas Amplicor) y concentración de cT CD4+ circulantes (BD). El virus de cada paciente se aisló de muestras de plasma, incubando células mononucleares de sangre periférica de donador sano, activadas con PHA-P (3  $\mu$ g/ml) e IL-2 (100 U/ml). La presencia de virus se determinó en los cultivos por ELISA Agp24 de VIH (Beckman Coulter). De los cultivos positivos, se infectaron células MT-2 (leucemia linfocítica, con receptores CD4 y predominio de coreceptores CXCR4) y se determinó la presencia de fenotipos inductores de sincicia. Sincicia se definió como la fusión de 5 o más células MT-2 con la presencia de 5 o más núcleos. Las cepas VIH<sub>SF33</sub> (positivo), VIH<sub>SF162</sub> (negativo) y VIH<sub>SF2</sub> (dual) se emplearon como controles de fenotipo biológico. Para el análisis de resultados de CV y concentración de cT CD4+ se realizó la prueba T-no pareada. Para determinar las diferencias de frecuencia entre grupos se realizó chi cuadrada. La relación de CV y el número de cT CD4+ se analizaron mediante regresión lineal.

**Resultados:** Se incluyeron 42 pacientes en etapa intermedia y 60 pacientes en etapa tardía. Los pacientes de etapa intermedia presentaban niveles mayores ( $p < 0.0001$ ) de cT CD4+ (406.3 células/ $\mu$ L, DE  $\pm$  155.5) que los pacientes de etapa tardía (62.5 células/ $\mu$ L, DE  $\pm$  40.9). Las concentraciones de CV también mostraron diferencias ( $p < 0.0001$ ) entre la etapa intermedia (144,245 copias RNA-VIH/ml, DE  $\pm$  174,857) y en etapa tardía (831,198 copias RNA-VIH/ml, DE  $\pm$  812,280). El logaritmo de los concentración de CV y la concentración de cT CD4+ ( $r^2 = -.297$ ,

\* Tercer lugar al Premio "INER". Investigación en Presentación Oral.  
‡ Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

$p < 0.0001$ ) correlacionaron negativamente. Los fenotipos inductores de sincicia en pacientes en etapa tardía (18/60) se observaron con mayor frecuencia que en pacientes de etapa intermedia (3/42) ( $p < 0.01$ ). Al clasificar a los pacientes por fenotipo biológico se observó diferencias en la concentración de cT CD4+ ( $p < 0.005$ ), con 232.6 células/ $\mu L$  ( $DE \pm 209$ ) en el fenotipo no inductor de sincicia y 94 células/ $\mu L$  ( $DE \pm 97$ ) en el fenotipo inductor de sincicia. La concentración de CV en pacientes con fenotipo no in-

ductor de sincicia (456,282 copias RNA-VIH/ml,  $DE \pm 659,068$ ) fue menor ( $p < 0.05$ ) que en el fenotipo no inductor de sincicia (903,397 copias RNA-VIH/ml,  $DE \pm 829,369$ ).

**Conclusiones:** Nuestros resultados muestran mayor frecuencia de fenotipos inductores de sincicia en pacientes en etapa tardía con respecto a los pacientes de etapa intermedia, asociado a alta CV y bajas concentraciones de cT CD4+ circulantes, factores determinantes para la progresión a SIDA.